



Développement de nano-traceurs à base d'organolanthanides pour applications biologiques et marquage de matériaux

Nicolas Wartenberg

► To cite this version:

Nicolas Wartenberg. Développement de nano-traceurs à base d'organolanthanides pour applications biologiques et marquage de matériaux. Autre. Université Claude Bernard - Lyon I, 2012. Français. NNT : 2012LYO10224 . tel-00987047

HAL Id: tel-00987047

<https://theses.hal.science/tel-00987047>

Submitted on 5 May 2014

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THESE

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON 1

Spécialité : **CHIMIE**

(Arrêté du 7 Aout 2006)

Présentée et soutenue publiquement par

WARTENBERG Nicolas

le 22 Novembre 2012

Développement de nano-traceurs à base d'organolanthanides pour applications biologiques et marquage de matériaux

Composition du jury

Pr DUGUET Etienne	CNRS Université de Bordeaux 1	Rapporteur
Dr GACOIN Thierry	CNRS Université de Paris 6	Rapporteur
Dr BOURGEAT-LAMI Elodie	CNRS Université de Lyon 1	Directrice de thèse
Dr RACCURT Olivier	CEA Grenoble	Encadrant CEA
Dr IMBERT Daniel	CEA Grenoble	Examineur
Pr PAROLA Stéphane	CNRS Université de Lyon 1	Examineur
Dr LE MERCIER Thierry	RHODIA	Examineur
Dr MORTAIGNE Bruno	DGA	Examineur

Laboratoire Chimie et Sécurité des Nanomatériaux
LITEN-Département des Technologies des Nanomatériaux
CEA de Grenoble

A Théo,

REMERCIEMENTS

Je tiens tout d'abord à remercier François Tardif de m'avoir accueilli au sein de l'équipe du LCSN et pour avoir accepté de financer la moitié de cette thèse. Merci de m'avoir fait confiance après mon stage de master pour pouvoir poursuivre ce projet de recherche. De même, ce travail n'aurait pu être réalisé sans le soutien financier de la Direction Générale de l'Armement que je remercie vivement.

Mes sincères remerciements à Elodie Bourgeat-Lami et à Olivier Raccurt pour m'avoir fait confiance en me proposant ce travail de thèse et pour avoir accepté de m'encadrer durant ces trois ans et demi. Olivier je te remercie pour ta disponibilité. Tu m'as suivi au quotidien tout en me laissant suffisamment de liberté dans mon travail, toujours en proposant mais sans jamais imposer. Etant à l'origine de ce sujet de thèse, tu m'as introduit aux différentes techniques nécessaires à son bon déroulement et je t'en remercie. Elodie je te remercie également pour ton implication et pour toutes les connaissances que tu m'as transmises sur les latex. Malgré l'éloignement géographique tu as toujours été présente et disponible quand j'en avais besoin. J'ai aussi beaucoup apprécié que tu t'intéresses à tous les aspects de la thèse, même si certains étaient en dehors de ton domaine de prédilection. Je tiens également à vous remercier pour votre bonne humeur, vos encouragements et pour le fait de n'avoir jamais douté (ce qui n'a pas toujours été mon cas !!).

Un immense merci à Daniel Imbert pour son aide sur les propriétés de luminescence et la synthèse des complexes de lanthanides. Merci de m'avoir patiemment fait partager tes connaissances sur les lanthanides. Cette thèse n'aurait certainement pas été la même sans toi et je tiens à te remercier pour ta gentillesse et ta disponibilité.

Je tiens également à remercier Marinella Mazzanti pour ces connaissances sur la chimie des lanthanides et pour sa rigueur scientifique. Tu as grandement contribué à l'étude sur le gadolinium par ton implication et je t'en remercie. Tu es l'instigatrice de cet axe de recherche et sans toi, je doute que cette partie ait vu le jour.

Un très grand merci à Pascal Fries pour tout son travail sur la caractérisation et la mise au point des nanoparticules dopées par le complexe de gadolinium. Je te remercie d'avoir été si patient et disponible pour m'initier à l'IRM et aux agents de contraste. J'ai également apprécié l'intérêt que tu portais à mon travail en général ainsi que ta gentillesse.

Je tiens à adresser mes remerciements aux membres du jury. Merci à Etienne Duguet et Thierry Gacoing d'avoir accepté de juger mon travail de thèse. Merci à Thierry Le Mercier et Bruno Mortaigne pour l'intérêt porté à mon travail et pour leur présence lors de ma soutenance. Et enfin, merci à Stéphane Parola d'avoir accepté de présider ce jury.

Un grand merci à l'ensemble du C2P2 à Lyon, qui m'a toujours très bien accueilli, même si je n'étais pas souvent sur place. J'aimerais remercier en particulier Francis qui m'a donné de précieux conseils lors de mes premières synthèses, Isabelle pour sa gentillesse et à qui je souhaite bonne chance pour la fin de thèse, et bien sûr à Virginie. Merci pour tes nombreux conseils, pour tes encouragements et ta bonne humeur.

Je voudrais également remercier le LRICC à Grenoble pour leur accueil, et en particulier Nicolas et Lydia pour leur gentillesse et leur bonne humeur.

Un immense merci à l'ensemble du LCSN où j'ai passé la majorité de ces trois années et où je garderais d'excellents souvenirs, et de nombreux amis. J'espère que vous avez apprécié autant que moi cette période passée ensemble.

A ce titre je vais commencer par remercier tous les thésards passés par le laboratoire, les anciens qui m'ont montré la voie et les futurs docteurs à qui je souhaite bon courage pour la suite : Jorice Samuel qui avait initié ce sujet et qui est devenu docteur alors que je venais de commencer, ta thèse m'a bien aidé ! Elsa Vitorge, toujours de bonne humeur, et dont la rédaction de thèse a paru n'être qu'une formalité (mais comment tu as fait !!) ; Pierre Bachaud, un vrai gentil et un grand footballeur (jusqu'à 13h du moins) ! Mathilde Didier qui a fini sa thèse en même temps que moi (à quelques semaines près), tellement gentille et toujours prête à rendre service (trop d'après certains). Merci pour ta bonne humeur, tes encouragements et ton soutien lors de cette dernière année (la compilation de la thèse notamment...). Et enfin je vais souhaiter bon courage à Thibault et à Clément, les petits nouveaux, je suis sûr que vous vous en sortirez très bien !

J'aimerais aussi remercier les non-permanents du laboratoire, qui ont défilé durant ces trois années et qui m'ont toujours supportés et offerts leur amitié : Mervyn, mon premier colocataire de bureau ! Si on m'avait dit à l'époque que tu allais devenir papa...je vous souhaite beaucoup de bonheur les M&M's. Juju, que j'ai connu pâle et se contentant d'une simple cannette de coca au repas de midi...et aujourd'hui tu es marié et papa (au passage merci pour la composition des tables au mariage) ! Sophie, la dernière post-doc de cette époque, merci pour tes conseils et tes encouragements ! Merci aussi pour ces week-ends à Neuchâtel et pour Bryan (merci pour les vêtements d'ailleurs)...dire que vous allez pouponner bientôt vous aussi ! Un grand merci au Dr Auger (qui tient beaucoup à son titre). Tu as toujours su me remotiver quand il le fallait et tu m'as pris sous ton aile dès mon arrivée. Je te remercie sincèrement pour toute l'aide que tu m'as apporté, pour tes conseils et pour ta bonne humeur (la plupart du temps ;-). Merci aussi pour les nombreuses soirées chez toi...que de souvenirs ! Chloé qui était là quand je suis arrivé et qui est repartie en même temps (on t'avait dit de faire une thèse pourtant !), tu as un cœur au moins aussi gros que ton temps de parole ! Je me dois également de remercier Cynthia pour son efficacité en tant que secrétaire personnelle et pour sa bonne humeur (à condition de ne pas trop la titiller !). Stéphanie Burle qui est arrivée en même temps que moi. Si certains se sont amusés de ta crédulité (pas moi) tu es quelqu'un d'adorable et je te souhaite beaucoup de bonheur avec micro (j'attends le faire-part de mariage). Merci aussi à Emilie et à Rémi, les derniers arrivés, avec qui j'ai également passé de très bons moments malgré les circonstances. Et enfin merci à Jo de m'avoir fait découvrir les spécialités dijonnaises !

Merci aux stagiaires/alternants, qui chaque année gonflaient (largement) les effectifs du LCSN et que je ne pourrais pas tous citer vu le nombre. Mais je voudrais particulièrement remercier Aurore, ma sympathique seconde colocataire de bureau (tellement gentille...un peu trop même peut être ? Prend bien soin de toi), Stéphanie E., Olivia, Rémi, Lewis, Stoufi (fait gaffe en montagne quand même !), Diego, Arthur, Céline (☺), Chau...et tous les autres !

Un grand merci aux permanents qui m'ont tous très bien accueilli et en particulier à Sakina pour sa bonne humeur (et pour les tests de « l'échelle qui pète »), à Stéphanie Desrousseaux pour son aide

sur les applications anti-contrefaçon, à Marilynne (fait attention dans les escaliers), à Christophe pour son aide en radioactif, à Sonia pour sa gentillesse, à Véro pour les moules au bbq et pour la piscine (profite bien de ta retraite), à Olivier P. pour sa disponibilité et ses précieux conseils, à Konstantin pour m'avoir initié à la culture russe, à David pour les trajets en train, à Sylvie pour son aide avec l'ICPMS, à Gilles pour ses cours sur l'électromagnétisme, à Dominique pour les ordres de mission et l'organisation de ma soutenance, mais aussi à Phiphi, Bruno, Olivier R. et Sébastien. Je voudrais également remercier tout particulièrement Daniel, le papa du groupe, pour ces récits d'ancien combattant de Narvik et pour les soirées pétanques, entre autres (arrête de faire ton grognon tu ne trompes plus personne !). Et enfin un grand merci à Nono pour les cafés le matin, pour les sorties ski, les soirées/après-midi piscine chez toi et pour tout le reste (merci aussi à Céline d'ailleurs...) !

Je voudrais également remercier toutes les personnes qui, même si elles n'ont pas participé directement à cette thèse, ont fait partie de mon quotidien durant ces trois ans. Merci aux physiciens de Grenoble et notamment à mon colocataire Romain, mais aussi à Mathias, Valéry, Antoine (merci pour l'hébergement à Lyon), Yannick, Orianne, Christophe et à tous les autres. Je remercie également mes amis de longue date, de Mulhouse et de Tours, et notamment Benoît qui m'a hébergé de nombreuses fois à Lyon (bon courage pour la rédaction). Merci à tous pour ces bons moments passés en votre compagnie !

Et enfin je remercie ma famille pour leur amour et leurs encouragements permanents durant ces trois années. Merci à mes parents et à mes grands-parents pour leur présence lors de ma soutenance ainsi qu'à mes sœurs, oncles, tantes, cousins et cousines qui ont pensé très fort à moi durant cette épreuve.

RESUME

Ce travail de thèse traite de l'élaboration de nanoparticules luminescentes à base d'organolanthanides pour des applications d'imagerie biomédicale ou de marquage pour la lutte anti contrefaçon. Les organolanthanides ont été incorporés sans liaison covalente afin de préserver leurs remarquables propriétés de luminescence et leur stabilité chimique. Deux types de nanoparticules ont été étudiés, des particules de latex et des billes de silice qui ont toutes les deux été synthétisées en milieu hétérogène.

La silice a été synthétisée par un procédé sol-gel en microémulsion inverse. Deux organolanthanides luminescents initialement dissous dans les micelles inverses ont été piégés physiquement dans la silice amorphe pendant sa formation. Une nouvelle méthode basée sur la quantification de l'activité d'un isotope radioactif de l'Eu(III) a été développée pour étudier l'incorporation des organolanthanides. Les propriétés physico-chimiques des organolanthanides influencent directement leur localisation au sein des particules et l'efficacité d'incorporation. L'étude approfondie de ces nanoparticules a permis de mettre en évidence une amélioration de la relaxivité d'un complexe de Gd(III) quand il est confiné dans la silice.

Les particules de latex ont été synthétisées par polymérisation radicalaire en miniémulsion directe. Différents organolanthanides de structures ionique ou non ionique ont été incorporés efficacement par simple dissolution dans le monomère. L'incorporation du complexe de structure ionique a nécessité l'utilisation d'un tensioactif cationique afin de le maintenir à l'intérieur des gouttelettes et garantir son incorporation dans les particules de latex. Ce système permet d'incorporer un grand nombre de complexes et aucun relargage n'est observé après plusieurs mois. Le ligand utilisé permet en plus d'exciter jusqu'à dix terres rares simultanément. En faisant varier la nature et la quantité des organolanthanides incorporés, il est ainsi possible de générer des codes optiques complexes sous une excitation unique.

Mots-clefs : Nanoparticules, Luminescence, Microémulsion, Miniémulsion, Silice, Latex, Relaxivité, Organolanthanides, Incorporation.

Thèse préparée aux :

- Laboratoire de Chimie et de Sécurité des Nanomatériaux (LITEN/DTNM).
CEA de Grenoble
- Laboratoire de Reconnaissance Ionique et de Chimie de Coordination (INAC/DRFMC).
CEA de Grenoble
- Laboratoire de Chimie, Catalyse, Polymères et Procédés (CPE/LCPP/UMR 5265).
Université de Lyon 1.

Development of nano-tracers based on organolanthanides for biological applications and materials tagging

ABSTRACT

This work deals with the elaboration of luminescent nanoparticles based on organolanthanides for bioimaging and optical coding. The organolanthanides were embedded without covalent linking in order to preserve their remarkable luminescent properties and chemical stability. Two different types of nanoparticles have been studied: polymer latexes and silica particles that were both synthesized in dispersed media.

The silica nanoparticles were synthesized by a reverse microemulsion-mediated sol-gel process. Two luminescent lanthanide chelates originally dissolved into water droplets were physically trapped into the amorphous silica during its formation. A novel method based on a radioactive Eu(III) probe has been developed to study the incorporation process. The physicochemical properties of the different chelates had a strong influence on their localization within the particles and on the measured incorporation efficiencies. This study finally allowed us to investigate the effect of Gd(III) complexes confinement into silica nanoparticles.

Luminescent polymer latexes based on organolanthanides have been synthesized by miniemulsion polymerization. Several organolanthanides exhibiting a ionic structure or a non-ionic structure have been efficiently embedded into latex particles by simple dissolution in the corresponding monomers. For the ionic lanthanide chelate, a cationic surfactant was used to maintain the organolanthanide complex inside the droplets and guaranty and efficient incorporation. The resulting polymeric luminescent nanoparticles showed excellent stability over leakage and a high loading capacity. This particular ligand is able to efficiently sensitize over ten luminescent lanthanides, emitting in the visible, the NIR or both regions. This allowed us to generate a large variety of color codes based on luminescence by tuning the emission signal using several lanthanide ions.

Keywords : Nanoparticles, Luminescent, Microemulsion, Miniemulsion, Silica, Latex, Relaxivity, Organolanthanides, Incorporation.

Table des matières

Introduction générale	6
Bibliographie de l'introduction générale.....	10
 Chapitre 1 : Introduction aux nanoparticules luminescentes	 13
1 Notions générales sur les nanoparticules	13
1.1 Introduction	13
1.2 Les différentes voies de synthèse de nanoparticules	15
1.3 Stabilité des nanoparticules.....	18
1.3.1 Les forces de van der Waals	18
1.3.2 Les forces électrostatiques : la double couche électrique	18
1.3.3 La théorie DLVO	19
1.3.4 Méthodes usuelles de stabilisation induite.....	21
1.4 Conclusion.....	22
2 Nanoparticules luminescentes	23
2.1 Définition de la luminescence	23
2.2 Les différents types de nanoparticules luminescentes	25
2.2.1 Les quantum dots	25
2.2.2 Nanoparticules inorganiques dopées avec des métaux.....	26
2.2.3 Nanoparticules dopées par des molécules luminescentes	26
2.3 Applications des nanoparticules luminescentes	28
2.3.1 Marquage de matériaux : lutte anti-contrefaçon	28
2.3.2 Imagerie en milieu biologique	30
2.3.3 Caractéristiques d'un traceur luminescent performant	32
3 Les organolanthanides.....	34
3.1 Chimie des lanthanides.....	34
3.2 Sensibilisation des lanthanides par effet d'antenne	36
4 Conclusion	38
Bibliographie du chapitre 1	39
 Chapitre 2 : Nanoparticules hybrides à base de silice : la voie sol-gel	 46
1 Synthèse de nanoparticules de silice par le procédé sol-gel	47
1.1 Le procédé sol-gel.....	47
1.2 Synthèse de nanoparticules de silice.....	48
1.3 Procédé sol-gel en milieu confiné : La Microémulsion Inverse.....	49
2 Synthèse de nanoparticules de silice luminescentes	55
2.1 Elaboration de particules luminescentes par voie Stöber	55
2.2 Elaboration de particules luminescentes par voie micellaire inverse	57
2.2.1 Incorporation par voie chimique : greffage covalent	57
2.2.2 Incorporation par voie physico-chimique : sans greffage covalent.....	60
3 Incorporation d'organolanthanides dans des nanoparticules de silice par voie micellaire inverse sans liaison covalente	63
3.1 Présentation des organolanthanides utilisés.....	63
3.2 Protocoles de synthèse des nanoparticules.....	66
3.2.1 Système quaternaire.....	66
3.2.2 Système ternaire.....	68
3.3 Caractérisations préliminaires des nanoparticules dopées	69
3.3.1 Cas du système quaternaire	69

3.3.2	Cas du système ternaire.....	74
3.4	Conclusion.....	76
4	Quantification du processus d'incorporation	77
4.1	Quantification par ICPMS.....	77
4.2	Quantification par traçage radioactif	80
4.2.1	Essais préliminaires : présentation du protocole	80
4.2.2	Cas du système quaternaire	82
4.2.3	Cas de la microémulsion ternaire	87
4.3	Comparaison des deux méthodes de quantification.....	92
4.4	Conclusion.....	93
5	Fonctionnalisation de la surface des particules de silice.....	95
6	Influence des conditions de synthèse en microémulsion.....	101
7	Conclusion	116
	Bibliographie du chapitre 2	117
	 Chapitre 3: Nanoparticules de latex luminescentes	 126
1	Introduction	126
1.1	Polymères et organolanthanides	126
1.2	Polymérisation en milieu dispersé : les latex.....	129
2	Polymérisation en émulsion	131
3	Polymérisation en miniémulsion	134
3.1	Définition	134
3.2	Encapsulation de composés organiques et inorganiques par polymérisation en miniémulsion	138
3.2.1	Encapsulation de solides inorganiques	138
3.2.2	Elaboration de nanocapsules à coeur huileux et à écorce polymère	140
3.2.3	Encapsulation de molécules organiques luminescentes.....	141
3.3	Conclusion.....	145
4	Incorporation de complexes de lanthanides dans des particules de latex par polymérisation en miniémulsion	146
4.1	Présentation du protocole de synthèse.....	147
4.1.1	Formulation	147
4.1.2	Formation de miniémulsions.....	148
4.1.3	Polymérisation de la miniémulsion.....	150
4.2	Synthèse et caractérisation des organolanthanides	151
4.2.1	Complexes à caractère « non-ionique ».....	152
4.2.2	Complexe à caractère « ionique »	154
4.3	Cas de l'incorporation des organolanthanides « non-ioniques ».....	155
4.3.1	Synthèse des particules de latex	155
4.3.2	Propriétés de luminescence des particules de latex.....	163
4.4	Cas de l'incorporation d'un organolanthanide à caractère « ionique »	166
4.4.1	Synthèse des particules de latex	166
4.4.2	Propriétés de luminescence des particules de latex.....	167
4.5	Conclusion.....	170
5	Etude de l'incorporation d'un organolanthanide « ionique »	171
5.1	Influence de la nature du tensioactif.....	171
5.1.1	Polymérisations stabilisées par des tensioactifs cationiques et non –ioniques.....	171
5.1.2	Propriétés de luminescence des particules de latex.....	174
5.1.3	Evaluation du partage de l'euprium entre les phases aqueuses et organiques.....	175
5.2	Caractérisation du système CTAB/PMMA/Eu(pytz) ₃ (NHOct ₃) ₃	178
5.2.1	Influence de la teneur en complexe	178

5.2.2	Mesure de l'efficacité d'incorporation des complexes de lanthanide.....	184
5.2.3	Influence de la teneur en complexe sur les propriétés de luminescence des particules de latex.....	186
5.2.4	Etude de la stabilité des particules de latex vis à vis du relargage des complexes	187
6	Conclusion	190
	Bibliographie du chapitre 3	192
	Chapitre 4 : Application des nanoparticules pour le codage optique et les agents de contraste	198
1	Latex multi-luminescents : création de codes optiques	198
1.1	Introduction	198
1.2	Propriétés de luminescence de $\text{Ln}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$	199
1.3	Création de codes optiques dans les latex : preuve de concept	207
1.4	Conclusion.....	209
2	Nanoparticules de silice dopées par un chélate de Gd(III) : agent de contraste.....	210
2.1	Introduction	210
2.1.1	Principe de l'Imagerie par Résonance Magnétique (IRM)	210
2.1.2	Concepts de relaxation et de relaxivité.....	211
2.1.3	Les chélates de Gd(III) comme agents de contraste	213
2.1.4	Nanomatériaux dopés par des complexes de Gd(III).....	216
2.2	Incorporation de $[\text{Gd}(\text{ebpatcn})\text{H}_2\text{O}]$ dans des nanoparticules de silice par voie micellaire inverse.....	218
2.2.1	Synthèse et caractérisation des particules de silice dopés par $[\text{Gd}(\text{ebpatcn})\text{H}_2\text{O}]$	218
2.2.2	Propriétés de relaxivité de $[\text{Gd}(\text{ebpatcn})(\text{H}_2\text{O})]$ incorporé dans la silice	219
2.3	Conclusion.....	222
	Bibliographie du chapitre 4	223
	Conclusion et perspectives.....	227
	ANNEXE 1 : Méthodes et instruments de caractérisation.....	231
	ANNEXE 2 : Caractérisation de l'incorporation de $\text{Ln}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$ avec Ln = Eu, Tb, Dy, Sm par polymérisation en miniémulsion.....	234
	ANNEXE 3 : Détail des propriétés de luminescence de $\text{Ln}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$ et $\text{Ln}(\text{pytz})_3(\text{NHET}_3)_3$	236

Introduction générale

Les matériaux de taille nanométrique tendent à occuper une place de plus en plus importante, que ce soit dans le domaine de la recherche académique mais également dans notre vie quotidienne, où ils sont déjà largement utilisés dans des produits de consommation courants [1]. Un tel engouement est suscité par les propriétés uniques que peuvent apporter ce type de matériau. La dimension « nano » permet en effet d'interagir au niveau moléculaire [2], d'augmenter le rapport surface/volume ce qui peut permettre d'augmenter la réactivité aux interfaces [3], ou encore dans certains cas de faire apparaître des propriétés absentes à l'échelle macroscopique [4, 5]. C'est pourquoi les nanomatériaux sont présents dans des disciplines de recherche diverses et variées et peuvent être mis en œuvre pour bien des applications. Parmi eux, les nanoparticules luminescentes ont été particulièrement étudiées [6-9]. Elles peuvent être luminescentes de nature [10, 11] ou par dopage d'un nanomatériau inerte par des molécules [12] ou des atomes [8] luminescents. L'utilisation de ce type de nanoparticules connaît un essor important depuis quelques années notamment dans le secteur de l'imagerie biomédicale [10, 13-16]. L'émergence des nanotechnologies a en effet permis une avancée importante dans ce domaine en fournissant des objets aux propriétés ajustables pouvant interagir avec des molécules d'intérêt biologique et/ou médical. De tels marqueurs luminescents ont par exemple été utilisés dans la lutte contre le cancer [17] et la détection de cellules tumorales [18] ou plus généralement pour étudier des mécanismes cellulaires [16]. Les nanoparticules luminescentes offrent donc de nouvelles opportunités aux biologistes pour la compréhension de mécanismes biologiques ou pour la détection et le traitement de maladies [19].

Ces objets invisibles de par leur taille mais pouvant être détectés et identifiés grâce à leur luminescence suscitent également un intérêt croissant pour la lutte anti-contrefaçon. La capacité à authentifier la provenance d'un produit, à l'heure où le nombre d'articles contrefaits ne cesse d'augmenter, est en effet devenue un sujet de préoccupation important pour les industriels. A ce titre, l'élaboration de systèmes d'identification basés sur un signal lumineux complexe, unique et porté par un objet de taille nanométrique et dispersable dans différents milieux représente une perspective particulièrement séduisante [20-22].

Le développement de nouveaux systèmes plus sensibles, plus réactifs ou plus stables, suscite donc un intérêt important. Il existe différents types de nanoparticules luminescentes, parmi lesquelles les quantum dots [5], les nanocristaux d'oxydes de terre rare dopés [23], et les nanoparticules de silice [24] ou de polymère [25] encapsulant ou fonctionnalisées par des molécules luminescentes. Le fait de doper un matériau inerte par des molécules permet de modifier sa taille et sa réactivité sans que cela n'affecte les propriétés globales de luminescence. Parmi les matériaux utilisés, la silice et les latex sont certainement ceux qui ont été le plus étudiés. La silice amorphe est non toxique et possède une bonne stabilité chimique et thermique. Elle offre un support dont la taille peut être ajustée et dont la surface peut être fonctionnalisée facilement par de nombreux groupements chimiques différents [26]. Cette matrice est donc particulièrement adaptée pour des applications dans le domaine médical [9, 27]. Les particules de polymère (latex) sont également largement étudiées pour la conception de nanoparticules luminescentes. Elles peuvent être de taille micrométrique [28] ou nanométrique [29] en fonction de la méthode de polymérisation, qui est

généralement effectuée en milieu dispersé. Les molécules luminescentes sont piégées dans la matrice au cours de la synthèse des particules ou à posteriori par gonflement du polymère et diffusion des molécules à l'intérieur. Une autre méthode consiste à polymériser un monomère luminescent ou à y greffer un fluorophore. De même que la silice, ces particules peuvent ensuite être fonctionnalisées par des biomolécules. En ce qui concerne les particules de silice, elles sont généralement synthétisées par voie liquide, soit par la méthode Stöber soit par la voie micellaire inverse. Ces deux techniques permettent d'obtenir des particules de taille contrôlée de 20 à 1000 nm de diamètre, avec une faible distribution en taille. Les molécules luminescentes sont alors piégées dans les pores de la silice lors de sa formation, ou greffées au sein du réseau en surface ou à l'intérieur.

L'incorporation d'espèces luminescentes dans des nanoparticules permet d'accroître la sensibilité de détection en augmentant localement, à l'échelle de la nanoparticule, le nombre de molécules. Ces objets peuvent être vus comme des containers pouvant incorporer des milliers de fluorophores et dont l'action peut être ajustée en jouant sur leur taille (diffusion ou non à travers les tissus, membrane cellulaire...) ou sur leurs fonctions de surface (ciblage d'entités spécifiques). La matrice peut également être vue comme une couche protectrice garantissant l'intégrité de la molécule incorporée et favorisant sa stabilité photochimique. A l'inverse, dans le cas d'objets luminescents toxiques, leur incorporation dans une matrice biocompatible permet d'éviter une interaction de la substance nocive avec les milieux biologiques [4].

Les propriétés de luminescence des nanoparticules dopées sont directement liées à celles de la molécule incorporée. Les chromophores organiques classiques comme les rhodamines ou les fluorescéines, sont parmi les premières molécules fluorescentes ayant été incorporées dans des particules. Malgré un rendement quantique élevé et un coût relativement faible, leur faible résistance face à la dégradation sous une excitation continue, (*i.e.* phénomène de photo-blanchiment) constitue une limitation importante. De plus, la largeur de leur bande d'émission empêche une utilisation simultanée d'un grand nombre des molécules différentes, indispensable pour la création de spectres d'émission complexes. La superposition de plusieurs spectres larges rend vite l'identification de chaque espèce délicate à cause de leur recouvrement, réduisant les possibilités de codage. C'est pourquoi les organolanthanides ont également été particulièrement étudiés [30]. Ils possèdent une section d'absorption importante grâce à leur partie organique et peuvent émettre du visible au proche infrarouge en fonction du lanthanide utilisé. Les spectres d'émission des lanthanides luminescents sont constitués de pics fins et caractéristiques de la terre rare. Cette propriété est largement utilisée pour des applications de codage optique. Les performances des organolanthanides dépendent de la nature du ligand qui doit, transférer efficacement l'énergie absorbée vers le lanthanide, limiter les interactions de la terre rare avec le solvant et assurer une coordination stable du lanthanide. Une autre application importante a contribué au développement des organolanthanides. En effet dans la famille des lanthanides, un ion en particulier est utilisé pour ses propriétés paramagnétiques uniques, le Gd(III). Ainsi des chélates de Gd(III) sont utilisés comme agents de contraste pour l'Imagerie par Résonance Magnétique (IRM) [31]. De même que pour les organolanthanides luminescents, l'incorporation de ces agents de contraste dans des nanoparticules a récemment suscité un intérêt important [32-38].

Dans ce contexte, cette thèse a pour objectifs de développer de nouveaux systèmes nanométriques basés sur des organolanthanides, pour des applications de marquage pour la lutte anti contrefaçon

et pour l'imagerie biomédicale, par résonance magnétique ou par microscopie de fluorescence. Différents organolanthanides développés par le Laboratoire de Reconnaissance Ionique et Chimie de Coordination du CEA de Grenoble ont ainsi été étudiés. Ces complexes figurent parmi les plus performants et les plus stables de la littérature. C'est pourquoi afin de conserver ces excellentes propriétés, ces organolanthanides seront incorporés aux nanoparticules sans modification chimique préalable, et donc sans greffage covalent. Afin de répondre aux deux applications visées, deux types de matériaux ont été choisis. D'un côté la silice qui est particulièrement adaptée aux applications pour la biologie, et d'un autre côté les polymères pour leur versatilité. Les organolanthanides n'étant pas chimiquement liés à la matrice, ils doivent être piégés dans la structure interne de cette dernière pendant sa formation. La localisation de l'organolanthanide pendant la nucléation et la croissance des particules est donc un point crucial. Les procédés de polymérisation en milieu hétérogène (et en particulier les techniques de polymérisation en miniémulsion et microémulsion) permettent un certain confinement des espèces solubilisées dans des nanogouttelettes stabilisées par des molécules de tensioactifs, qui deviennent alors le site principal de formation des particules. Nous avons donc utilisé le procédé de polymérisation en miniémulsion dans le cas de l'incorporation d'organolanthanides organosolubles dans des particules de latex tandis qu'en parallèle la microémulsion inverse a été choisie afin d'incorporer des organolanthanides hydrosolubles dans des nanoparticules de silice. Ce travail de thèse a consisté à synthétiser, optimiser et à caractériser ces nouveaux objets.

La thèse est constituée de deux parties principales qui ont été menées en parallèle : la synthèse de particules de latex d'une part, et la synthèse de particules de silice d'autre part. Les particules de latex ont été synthétisées au laboratoire de Chimie, Catalyse, Polymères et Procédés à Lyon, tandis que la synthèse des particules de silice a été réalisée au Laboratoire de Chimie et de Sécurité des Nanomatériaux à Grenoble.

Le premier chapitre de cette thèse dresse un rapide aperçu des principales propriétés et applications des nanoparticules en insistant sur le cas particulier des particules luminescentes. Il présente ensuite quelques généralités sur la chimie des lanthanides et sur les propriétés de luminescence des complexes de lanthanide.

Le deuxième chapitre est quant à lui consacré à l'étude de l'incorporation de deux organolanthanides dans des nanoparticules de silice de deux tailles différentes obtenues par polycondensation hydrolytique par voie sol-gel en milieu micellaire inverse. Afin de quantifier l'incorporation des complexes de lanthanide dans les particules de silice, une nouvelle méthode basée sur l'utilisation d'un isotope radioactif de l'euporium a été développée. Le suivi de cette incorporation a permis d'estimer l'efficacité de l'incorporation et sa stabilité au cours du temps. Elle a également permis de mettre en évidence l'influence de la nature du ligand sur l'efficacité d'incorporation.

Le chapitre 3 traite de la synthèse de particules de latex luminescentes par polymérisation radicalaire en miniémulsion directe. L'incorporation d'organolanthanides possédant des structures différentes dans des particules de polystyrène, de poly(méthacrylate de méthyle) et de poly(acrylate de butyle) a été effectuée. L'incorporation d'un complexe de lanthanide présentant une structure ionique, encore jamais décrite dans la littérature, a été étudiée de façon détaillée. De même que pour la silice, l'efficacité de l'incorporation, la stabilité vis-à-vis du relargage, la morphologie des particules et leurs propriétés de luminescence ont été caractérisées.

Le dernier chapitre tire parti du travail effectué lors des deux précédents chapitres et présente deux systèmes présentant un intérêt pour les applications visées. Le premier est issu du travail sur l'incorporation d'un complexe ionique dans les particules de latex. Le ligand utilisé est en effet capable d'exciter simultanément la quasi-totalité des lanthanides. Ce système semble prometteur pour la création d'un grand nombre de codes optiques par superposition de l'émission des différentes terres rares dans le cadre du marquage anti contrefaçon. Le deuxième système tire parti du travail sur l'incorporation de complexes de lanthanide dans les particules de silice. La caractérisation fine de ces particules dopées a permis d'étudier l'effet de confinement d'un chélate de Gd(III) sur ses propriétés de relaxivité. Les résultats obtenus sont prometteurs en vue du développement d'agents de contraste plus performants pour l'IRM.

Bibliographie de l'introduction générale

1. **Goesmann, H. and C. Feldmann**, Nanoparticulate Functional Materials. *Angewandte Chemie-International Edition*, **2010**. 49(8): p. 1362-1395.
2. **Sharrna, P., S. Brown, G. Walter, S. Santra, and B. Moudgil**, Nanoparticles for bioimaging. *Advances in Colloid and Interface Science*, **2006**. 123: p. 471-485.
3. **Klabunde, K.J. and S. Winecki**, Nanoscale Materials in Chemistry **2001**, New York: Wiley.
4. **Reiss, P., M. Protière, and L. Li**, Core/Shell Semiconductor Nanocrystals. *Small*, **2009**. 5(2): p. 154-168.
5. **Alivisatos, A.P.**, Semiconductor Clusters, Nanocrystals, and Quantum Dots. *Science*, **1996**. 271(5251): p. 933-937.
6. **Jaiswal, J.K., H. Mattoussi, J.M. Mauro, and S.M. Simon**, Long-term multiple color imaging of live cells using quantum dot bioconjugates. *Nature Biotechnology*, **2003**. 21(1): p. 47-51.
7. **Yan, J.L., M.C. Estevez, J.E. Smith, K.M. Wang, X.X. He, L. Wang, and W.H. Tan**, Dye-doped nanoparticles for bioanalysis. *Nano Today*, **2007**. 2(3): p. 44-50.
8. **Bouzigues, C., T. Gacoin, and A. Alexandrou**, Biological Applications of Rare-Earth Based Nanoparticles. *ACS Nano*, **2011**. 5(11): p. 8488-8505.
9. **Rampazzo, E., F. Boschi, S. Bonacchi, R. Juris, M. Montalti, N. Zaccheroni, L. Prodi, L. Calderan, B. Rossi, S. Becchi, and A. Sbarbati**, Multicolor core/shell silica nanoparticles for in vivo and ex vivo imaging. *Nanoscale*, **2012**. 4(3): p. 824-830.
10. **Han, M.Y., X.H. Gao, J.Z. Su, and S. Nie**, Quantum-dot-tagged microbeads for multiplexed optical coding of biomolecules. *Nature Biotechnology*, **2001**. 19(7): p. 631-635.
11. **Kim, S., C.-K. Lim, J. Na, Y.-D. Lee, K. Kim, K. Choi, J.F. Leary, and I.C. Kwon**, Conjugated polymer nanoparticles for biomedical in vivo imaging. *Chemical Communications*, **2010**. 46(10): p. 1617-1619.
12. **Bringley, J.F., T.L. Penner, R.Z. Wang, J.F. Harder, W.J. Harrison, and L. Buonemani**, Silica nanoparticles encapsulating near-infrared emissive cyanine dyes. *Journal of Colloid and Interface Science*, **2008**. 320(1): p. 132-139.
13. **Zhang, J., R.E. Campbell, A.Y. Ting, and R.Y. Tsien**, Creating new fluorescent probes for cell biology. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, **2002**. 3(12): p. 906-918.
14. **Gao, X., Y. Cui, R.M. Levenson, L.W.K. Chung, and S. Nie**, In vivo cancer targeting and imaging with semiconductor quantum dots. *Nat. Biotech.*, **2004**. 22(8): p. 969-976.
15. **Medintz, I.L., H.T. Uyeda, E.R. Goldman, and H. Mattoussi**, Quantum dot bioconjugates for imaging, labelling and sensing. *Nat. Mater.*, **2005**. 4(6): p. 435-446.
16. **Michalet, X., F.F. Pinaud, L.A. Bentolila, J.M. Tsay, S. Doose, J.J. Li, G. Sundaresan, A.M. Wu, S.S. Gambhir, and S. Weiss**, Quantum dots for live cells, in vivo imaging, and diagnostics. *Science*, **2005**. 307(5709): p. 538-544.
17. **Kondepati, V.R., H.M. Heise, and J. Backhaus**, Recent applications of near-infrared spectroscopy in cancer diagnosis and therapy. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **2008**. 390(1): p. 125-139.
18. **Hu, H., L. Xiong, J. Zhou, F. Li, T. Cao, and C. Huang**, Multimodal-Luminescence Core-Shell Nanocomposites for Targeted Imaging of Tumor Cells. *Chemistry-a European Journal*, **2009**. 15(14): p. 3577-3584.
19. **Ferrari, M.**, Cancer nanotechnology: Opportunities and challenges. *Nature Reviews Cancer*, **2005**. 5(3): p. 161-171.
20. **Kerbellec, N., D. Kustaryono, V. Haquin, M. Etienne, C. Daiguebonne, and O. Guillou**, An Unprecedented Family of Lanthanide-Containing Coordination Polymers with Highly Tunable Emission Properties. *Inorganic Chemistry*, **2009**. 48(7): p. 2837-2843.
21. **White, K.A., D.A. Chengelis, K.A. Gogick, J. Stehman, N.L. Rosi, and S.p. Petoud**, Near-Infrared Luminescent Lanthanide MOF Barcodes. *Journal of the American Chemical Society*, **2009**. 131(50): p. 18069-18071.

22. **Robert, W., R.C. Andrew, and G.S. David**, Encoded Microcarriers For High-Throughput Multiplexed Detection. *Angewandte Chemie International Edition*, **2006**. 45(37): p. 6104-6117.
23. **Feldmann, C., T. Jüstel, C.R. Ronda, and P.J. Schmidt**, Inorganic Luminescent Materials: 100 Years of Research and Application. *Advanced Functional Materials*, **2003**. 13(7): p. 511-516.
24. **Ow, H., D.R. Larson, M. Srivastava, B.A. Baird, W.W. Webb, and U. Wiesner**, Bright and stable core-shell fluorescent silica nanoparticles. *Nano Letters*, **2005**. 5(1): p. 113-117.
25. **Holzapfel V, M. A., L. K., L.M. R., and a.M. V.**, Preparation of fluorescent carboxyl and amino functionalized polystyrene particles by miniemulsion polymerization as markers for cells. *Macromol. Chem. Phys.*, **2005**. 206(24): p. 2440.
26. **Bonacchi, S., D. Genovese, R. Juris, M. Montalti, L. Prodi, E. Rampazzo, and N. Zaccheroni**, Luminescent Silica Nanoparticles: Extending the Frontiers of Brightness. *Angewandte Chemie-International Edition*, **2011**. 50(18): p. 4056-4066.
27. **Bonacchi, S., D. Genovese, R. Juris, M. Montalti, L. Prodi, E. Rampazzo, M. Sgarzi, and N. Zaccheroni**, Luminescent Chemosensors Based on Silica Nanoparticles, in *Luminescence Applied in Sensor Science*, **2011**. p. 93-138.
28. **Liang, Y., A.I. Abdelrahman, V. Baranov, and M.A. Winnik**, The synthesis and characterization of lanthanide-encoded poly(styrene-co-methacrylic acid) microspheres. *Polymer*, **2011**. 52(22): p. 5040-5052.
29. **Vancaeyzeele, C., O. Ornatsky, V. Baranov, L. Shen, A. Abdelrahman, and M.A. Winnik**, Lanthanide-containing polymer nanoparticles for biological tagging applications: Nonspecific endocytosis and cell adhesion. *Journal of the American Chemical Society*, **2007**. 129: p. 13653-13660.
30. **Bunzli, J.C.G. and C. Piguet**, Taking advantage of luminescent lanthanide ions. *Chemical Society Reviews*, **2005**. 34(12): p. 1048-1077.
31. **Ferreira, M.F., B. Mousavi, P.M. Ferreira, C.I.O. Martins, L. Helm, J.A. Martins, and C.F.G.C. Geraldes**, Gold nanoparticles functionalised with stable, fast water exchanging Gd³⁺ chelates as high relaxivity contrast agents for MRI. *Dalton Transactions*, **2012**. 41(18): p. 5472-5475.
32. **Caravan, P.**, Strategies for increasing the sensitivity of gadolinium based MRI contrast agents. *Chemical Society Reviews*, **2006**. 35(6): p. 512-523.
33. **Sitharaman, B., K.R. Kissell, K.B. Hartman, L.A. Tran, A. Baikalov, I. Rusakova, Y. Sun, H.A. Khant, S.J. Ludtke, W. Chiu, S. Laus, E. Toth, L. Helm, A.E. Merbach, and L.J. Wilson**, Superparamagnetic gadonanotubes are high-performance MRI contrast agents. *Chemical Communications*, **2005**(31): p. 3915-3917.
34. **Botta, M. and L. Tei**, Relaxivity Enhancement in Macromolecular and Nanosized GdIII-Based MRI Contrast Agents. *European Journal of Inorganic Chemistry*, **2012**. 2012(12): p. 1945-1960.
35. **Terreno, E., D.D. Castelli, A. Viale, and S. Aime**, Challenges for Molecular Magnetic Resonance Imaging. *Chemical Reviews*, **2010**. 110(5): p. 3019-3042.
36. **Moriggi, L.c., C. Cannizzo, E. Dumas, C.d.R. Mayer, A. Ulianov, and L. Helm**, Gold Nanoparticles Functionalized with Gadolinium Chelates as High-Relaxivity MRI Contrast Agents. *Journal of the American Chemical Society*, **2009**. 131(31): p. 10828-10829.
37. **Ananta, J.S., B. Godin, R. Sethi, L. Moriggi, X. Liu, R.E. Serda, R. Krishnamurthy, R. Muthupillai, R.D. Bolskar, L. Helm, M. Ferrari, L.J. Wilson, and P. Decuzzi**, Geometrical confinement of gadolinium-based contrast agents in nanoporous particles enhances T1 contrast. *Nat Nano*, **2010**. 5(11): p. 815-821.
38. **Na, H.B. and T. Hyeon**, Nanostructured T1 MRI contrast agents. *Journal of Materials Chemistry*, **2009**. 19(35): p. 6267-6273.

Chapitre 1 : Introduction aux nanoparticules luminescentes

Table des matières

1	Notions générales sur les nanoparticules	13
1.1	Introduction	13
1.2	Les différentes voies de synthèse de nanoparticules	15
1.3	Stabilité des nanoparticules	18
1.3.1	Les forces de van der Waals	18
1.3.2	Les forces électrostatiques : la double couche électrique	18
1.3.3	La théorie DLVO	19
1.3.4	Méthodes usuelles de stabilisation induite.....	21
1.4	Conclusion.....	22
2	Nanoparticules luminescentes	23
2.1	Définition de la luminescence	23
2.2	Les différents types de nanoparticules luminescentes	25
2.2.1	Les quantum dots	25
2.2.2	Nanoparticules inorganiques dopées avec des métaux.....	26
2.2.3	Nanoparticules dopées par des molécules luminescentes	26
2.3	Applications des nanoparticules luminescentes	28
2.3.1	Marquage de matériaux : lutte anti-contrefaçon	28
2.3.2	Imagerie en milieu biologique	30
2.3.3	Caractéristiques d'un traceur luminescent performant	32
3	Les organolanthanides.....	34
3.1	Chimie des lanthanides.....	34
3.2	Sensibilisation des lanthanides par effet d'antenne	36
4	Conclusion	38
	Bibliographie du chapitre 1	39

Chapitre 1 : Introduction aux nanoparticules luminescentes

Ce premier chapitre a pour objectif d'introduire les concepts généraux liés à l'utilisation de nanoparticules. Après avoir défini le terme « nano », les propriétés et les applications les plus notables des nanoparticules seront brièvement décrites. Les nanoparticules luminescentes pour des applications de marquage et de traçage seront ensuite décrites en particulier.

1 Notions générales sur les nanoparticules

1.1 Introduction

Depuis les premières références aux « nanoparticules » dans les années 80 [1, 2] (alors désignées par le terme « petites particules »), ce domaine de recherche connaît un essor considérable. En effet en l'espace de trente ans, le nombre de publications traitant de ce sujet a vu son nombre augmenter de manière exponentielle [3]. Cet engouement exceptionnel témoigne de l'intérêt de ces objets dans de nombreux domaines. Un aperçu rapide des différentes applications et domaines de recherche liés aux nanoparticules sera présenté dans cette partie.

Le terme « nano » vient du grec « nânos » qui signifie « nain ». Ces matériaux, invisibles à l'œil nu, possèdent au minimum une dimension de taille nanométrique (10^{-9} m) (voir Figure 1). Plus précisément, il est largement admis par la communauté scientifique que le terme nanoparticule est réservé aux objets dont l'une des dimensions est inférieure à 100 nm. Cette définition est purement arbitraire mais il s'avère qu'elle couvre bien le domaine dans lequel les propriétés de certains matériaux deviennent dépendantes de leur taille.

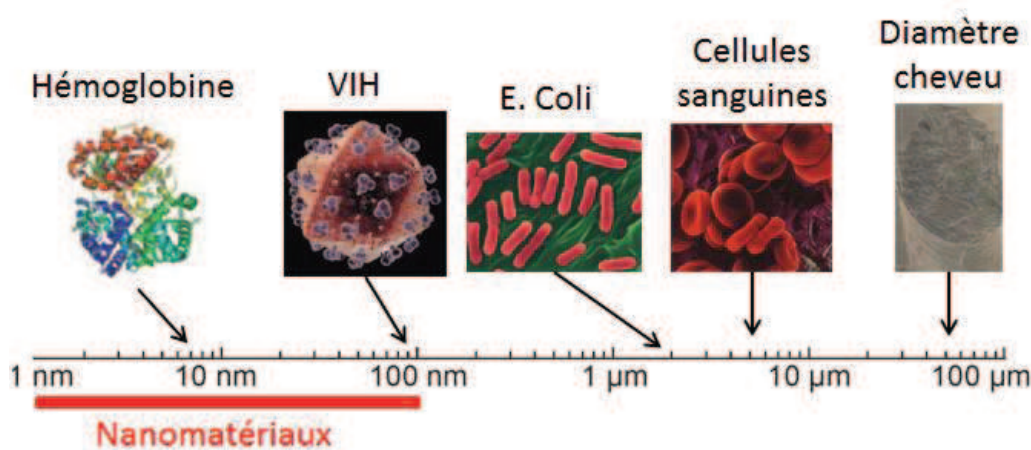


Figure 1 Echelle de taille situant le domaine des nanomatériaux [3]

L'étude des nanomatériaux a beau être relativement récente, leur utilisation remonte à l'époque gréco-romaine où des colloïdes d'or étaient introduits dans du verre, leur procurant une coloration rouge-violette. En faisant varier la taille des particules d'or (entre 1 et 50 nm), une large gamme de

teintes entre le rouge et le violet peut être obtenue et utilisée pour teinter des verres ou des porcelaines. Bien plus tard au XIX^{ème} siècle, Faraday a mis en évidence le lien entre la taille des particules d'or et la coloration des solutions colloïdales [4]. Le cas de l'or est le premier mettant en évidence des propriétés différentes entre le matériau à l'état massif (type « bulk ») et le matériau à l'état divisé (propriétés optiques dans ce cas). De nos jours les nanoparticules d'or sont toujours utilisées pour la coloration des verres, mais également dans le domaine de la catalyse, pour des applications de marquage en biologie et en optique [5].

Aujourd'hui, une autre application répandue des nanoparticules, concerne les crèmes solaires dans lesquelles les agents absorbants l'UV sont des nanoparticules de TiO₂ ou de ZnO (50-80 nm) [6]. Leur taille étant bien inférieure à celle de la longueur d'onde de la lumière visible (380-780 nm), une fine couche de crème solaire est transparente à l'œil mais absorbe les rayonnements UV. D'une manière générale pour une quantité de matière équivalente, plus les particules sont petites et plus les solutions sont transparentes car elles diffusent moins la lumière. Les nanoparticules sont également intensément utilisées dans le domaine de la catalyse hétérogène où les réactions se produisent uniquement en surface [7, 8]. L'accessibilité et la surface spécifique du catalyseur conditionnent ainsi directement l'efficacité des réactions catalytiques. La petite taille des nanoparticules leur confère une surface spécifique très élevée. Ainsi pour une même quantité de matériau utilisée, la surface développée sera d'autant plus importante que la taille des particules sera petite. Ceci est particulièrement intéressant dans le domaine de la catalyse hétérogène où les catalyseurs sont souvent des métaux nobles coûteux (Pd, Pt...).

Les nanoparticules sont donc déjà utilisées dans différents domaines à l'échelle industrielle, comme cela a été illustré avec quelques exemples. Ces trois cas illustrent bien les différences de propriétés notables liées à l'utilisation de nanoparticules par rapport au matériau massif (« bulk »). Ces principales propriétés peuvent être grossièrement regroupées en trois catégories :

- La **très grande surface spécifique** développée par les nanoparticules est à l'origine de l'amélioration des propriétés par rapport au matériau massif. En effet à quantité de matière égale, l'objet nano présentera plus d'atomes/sites réactionnels en surface, et donc accessibles. L'augmentation du ratio surface/volume permet d'exacerber les propriétés du matériau massif.
- La **taille nanométrique** en elle-même permet d'obtenir de nouvelles propriétés (films dopés transparents) ou d'envisager de nouvelles applications (miniaturisation, diffusion à travers les tissus biologiques, membranes cellulaires...).
- La diminution de la taille à l'échelle nano entraîne une **modification des propriétés** du matériau. La structure électronique du matériau est alors directement influencée par sa taille. Les deux exemples les plus importants sont les nanoparticules d'or et les quantum dots semi-conducteurs.

1.2 Les différentes voies de synthèse de nanoparticules

De nombreuses méthodes ont été développées pour la synthèse de nanoparticules. Elles peuvent être classées en trois grands groupes : les méthodes de synthèse par broyage, les méthodes de synthèse en phase gazeuse et celles en phase liquide. Ces différentes méthodes possèdent leurs avantages et leurs inconvénients, et peuvent être plus ou moins adaptées à la synthèse de certains types de nanomatériaux. En effet pour obtenir des nanoparticules de qualité, compatibles avec une application, la taille n'est pas l'unique paramètre à prendre en compte. Elles doivent en plus avoir une distribution en taille étroite, être stables vis-à-vis des phénomènes d'agglomération et avoir une morphologie et une composition chimique contrôlées.

Les méthodes de broyage [9] sont particulièrement adaptées pour la synthèse de grosses quantités de nanoparticules. Cependant elles permettent difficilement d'obtenir des tailles de particules inférieures à 50 nm et la procédure de broyage peut provoquer l'agglomération des particules. De plus, des problèmes de contamination avec l'équipement de broyage peuvent également intervenir. Ces méthodes ne sont donc pas adaptées à la synthèse de nanoparticules de très hautes qualités, comme les particules hybrides structurées type cœur-coquille. Elles sont en revanche très utilisées en industrie car elles permettent une production importante de nanoparticules à faible coût.

Les méthodes de synthèse en phase gazeuse [10] sont également très répandues en industrie pour la production de nanoparticules cristallines en continue. Cependant ce procédé requiert de travailler à très hautes températures (plus de 500°C) ce qui peut provoquer la formation irréversible d'agrégats. De plus ces conditions de température peuvent être rédhibitoires pour l'utilisation de certains composés, notamment les espèces organiques.

Les méthodes de synthèse en voie liquide [11, 12] sont en revanche particulièrement adaptées à la synthèse de nanoparticules de taille et de morphologie contrôlées. En effet l'utilisation de molécules organiques stabilisantes (composés à longues chaînes alkyles, tensioactifs ou polymères) permet de contrôler la croissance et l'agglomération des particules. Ainsi des nanoparticules possédant des morphologies très variées ont pu être obtenues par cette voie de synthèse [11, 13]. C'est la méthode la plus largement utilisée au laboratoire car elle permet une très grande liberté quant à la composition, la taille, la forme ou la fonctionnalisation de surface des nanoparticules. C'est la voie qui a été choisie dans cette thèse car c'est la technique la plus adaptée pour la synthèse de nanoparticules hybrides multifonctionnelles. Les méthodes de broyage ne permettent pas d'obtenir des particules monodisperses de taille inférieure à 100 nm. Et celles en phase gazeuse ne sont pas compatibles avec l'utilisation de molécules organiques comme les organolanthanides. Il existe plusieurs types de synthèses en phase liquide : la voie solvo-thermale, le procédé « sol-gel » (ou simplement « sol »), la méthode micro-ondes ou encore la microémulsion [11, 12, 14-16]. Ces deux dernières méthodes seront développées plus en détails dans le chapitre 2. La synthèse en voie liquide est basée sur la croissance/précipitation d'une phase solide à partir d'une solution liquide initiale. D'une manière générale, l'obtention de nanoparticules de tailles contrôlées, monodisperses et individualisées (pas d'agglomération) est limitée par deux processus fondamentaux : un contrôle des étapes de nucléation et de croissance, et la suppression des phénomènes d'agglomération [3]. Si la nucléation est un procédé endothermique, la croissance des germes et leur agglomération par mûrissement d'Ostwald sont quant à eux des phénomènes

exothermiques. C'est pourquoi l'agglomération et la croissance des particules seront toujours favorisées. La synthèse de gros objets en phase liquide (faible interface) est toujours plus favorable énergétiquement que celle de nanoparticules (interface très importante).

- **Contrôle des étapes de nucléation et de croissance**, selon le modèle de LaMer [17] (Figure 2) : Pour initier la nucléation dans la phase liquide, une « sur-saturation » (solution énergétiquement non stable) de l'espèce solubilisée doit être imposée (phases I et II) [11, 12, 17]. Les nucléis formés subissent alors une étape de croissance par addition des molécules (phase II). Quand la concentration de l'espèce solubilisée devient inférieure à la concentration critique de « sur-saturation », il n'y a plus de nucléation et seul le procédé de croissance par addition de molécules intervient (phase III). Ce processus se poursuit jusqu'à ce que la quantité en molécules dans le milieu soit épuisée. A ce stade, des particules relativement monodisperses peuvent être obtenues en stoppant la réaction rapidement, ou en rajoutant des molécules dans le milieu pour rester au-dessus de la concentration critique C_s , et poursuivre la croissance.

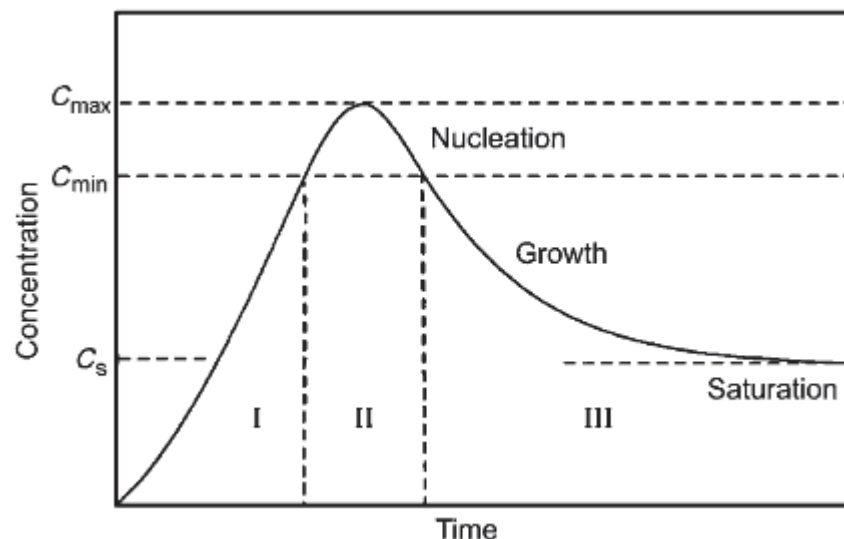


Figure 2 Modèle de nucléation et de croissance de particules en phase liquide selon LaMer [17]

- En revanche si rien n'est fait à ce stade, le phénomène de **Mûrissement d'Ostwald** intervient : les grosses particules continuent à croître en se « nourrissant » des plus petites. A ce stade les particules sont très polydisperses, à moins d'attendre suffisamment longtemps jusqu'à ce que la totalité des plus petites particules soit consommée. La taille des particules devient alors très importante (tailles micrométriques) [11].

Ce modèle ne prend pas en compte les phénomènes d'agrégation entre particules lors de l'étape de croissance par addition de molécules à la surface des nucléis. Or la croissance de particules par agrégation est bien plus rapide que celle par addition de molécules [11]. Les nanoparticules étant naturellement instables de par leurs petites tailles, elles auront toujours tendance à s'agglomérer. Donc pour obtenir des nanoparticules monodisperses, il est nécessaire d'avoir une nucléation rapide et efficace (autant de nucléis initiaux que de particules finales) et séparée de l'étape de croissance. Ceci peut par exemple être obtenu avec un apport d'énergie [18]. Les nucléis doivent ensuite être

stabilisés par effets stériques ou électrostatiques afin de contrôler leur croissance et de supprimer les phénomènes de mûrissement d'Ostwald et d'aggrégation [19]. La Figure 3 résume les différents processus de croissance et de stabilisation des nanoparticules.

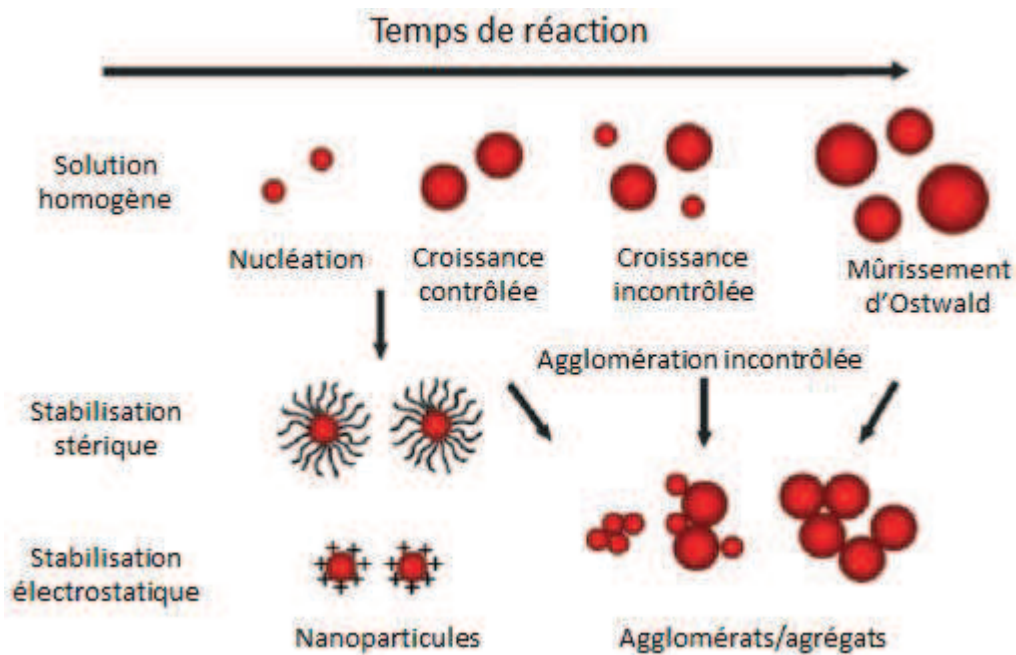


Figure 3 Mécanismes de croissance et de stabilisations de nanoparticules synthétisées en phase liquide [3]

La stabilité des nanoparticules est donc un problème majeur qui doit être pris en considération pendant la synthèse, mais également avant chaque application. En effet l'aggrégation des nanoparticules est l'un des principaux obstacles à leur utilisation, car elle entraîne souvent la perte des propriétés associées à la dimension « nano ». Pour des applications biomédicales par exemple, la déstabilisation des nanoparticules injectées peut entraîner une accumulation néfaste voire mortelle (embolie) [20]. Contrairement aux nanoparticules synthétisées en voie sèche qui s'agglomèrent facilement, celles obtenues en phase liquide peuvent être stabilisées efficacement, ce qui facilite leur mise en œuvre. Les mécanismes d'agglomération et de stabilisation de nanoparticules dispersées, issus de la chimie des colloïdes [21], sont détaillés dans la partie suivante.

1.3 Stabilité des nanoparticules

La tendance naturelle des nanoparticules à s'agglomérer provient de deux phénomènes. Le premier, d'origine thermodynamique, est lié à l'importante surface développée par rapport au volume des nanoparticules qui est défavorable énergétiquement. La diminution de l'interface par l'agglomération des particules permet d'atteindre un état plus stable, comme cela a déjà été évoqué précédemment. Le deuxième, d'ordre cinétique, est lié au mouvement brownien auquel sont soumises les particules en solution. Des collisions inter-particulaires pourraient également être induites par ce mouvement brownien, entraînant une agglomération. Cependant ces collisions ne sont pas toujours effectives. En effet dans la majorité des cas, les surfaces sont chargées et en contact avec les ions du milieu liquide, ce qui provoque une redistribution inégale des ions à l'interface. Cette distribution inégale entraîne l'apparition de charges opposées aux deux interfaces, créant un potentiel et l'apparition d'une double couche électrique [22]. Ce phénomène peut induire une répulsion électrostatique entre les particules, empêchant leur collision. La stabilité des nanoparticules est donc une compétition complexe entre des forces attractives et répulsives. Même si ces phénomènes ne sont pas entièrement compris, la théorie la plus utilisée pour modéliser ces interactions est celle développée par Derjaguin, Landau, Verwey et Overbeek (*i.e.* théorie DLVO). La stabilité colloïdale est ainsi basée sur la compétition entre les forces attractives de van der Waals et les forces répulsives électrostatiques.

1.3.1 Les forces de van der Waals

La portée des forces d'attraction de type van der Waals varie des distances atomiques jusqu'à des distances colloïdales. Ces forces de longue portée sont à l'origine des attractions inter-particulaires. A l'échelle moléculaire, les forces de van der Waals regroupent les différentes interactions dipolaires (entre dipôles induits et/ou permanents) entre molécules. A l'échelle des particules, les interactions de van der Waals sont décrites par la théorie de Hamaker. Elle consiste à considérer toutes les paires de molécules qui interagissent entre deux corps de dimensions macroscopiques. L'énergie potentielle d'attraction entre particules colloïdales est calculée en ajoutant les interactions à l'échelle moléculaire [23]. Elle dépend de la nature des particules, de leur taille, du milieu dispersant et de la distance inter-particulaire. Pour des particules sphériques identiques de rayon a , dont les centres sont distants de R , l'énergie potentielle d'attraction (V_A) selon le modèle de Hamaker s'écrit :

$$V_A = -\frac{A}{6} \frac{2a^2}{R^2 - 4a^2} + \frac{2a^2}{R^2} + \ln \frac{R^2 - 4a^2}{R^2}$$

A est la constante d'Hamaker qui dépend des particules et du milieu dispersant. Pour deux corps identiques les forces de van der Waals sont toujours attractives [22].

1.3.2 Les forces électrostatiques : la double couche électrique

Les forces répulsives entre particules sont d'origine électrostatique, induite par la charge de surface des particules. Plusieurs modèles ont été proposés pour décrire ce phénomène : Helmholtz en 1879, Gouy et Chapman au début des années 1900, et Stern en 1924 [24]. Ce dernier, qui combine les précédents modèles est le plus utilisé. Il est aussi connu comme le modèle de la double couche électrique (Figure 4).

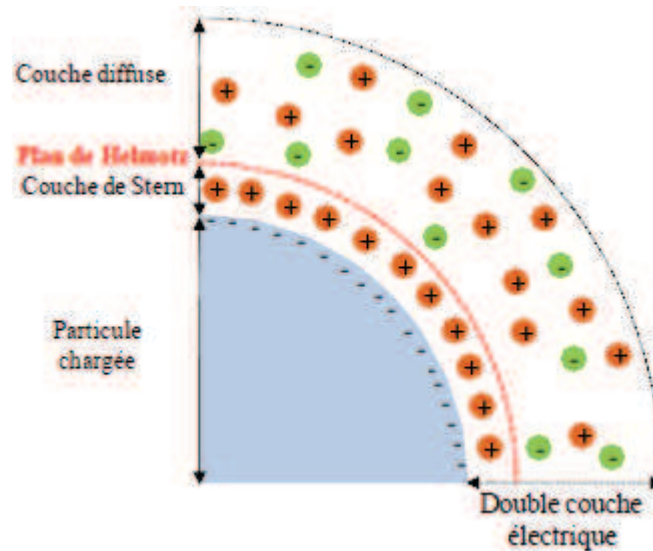


Figure 4 Représentation schématisée de la double couche électrique selon Stern [25]

Elle est constituée d'une couche compacte, dite de Stern, en interaction directe avec la surface et de charge opposée. Au-delà il existe une deuxième couche dite diffuse, composée de contre-ions (ions de même signe que la couche de Stern) et de co-ions (ions de même signe que la surface chargée). La concentration en contre-ions est nettement plus importante que celle en co-ions dans la double couche électrique. Le potentiel électrostatique ainsi développé par des particules de même charge est répulsif. Dans le cas de faibles potentiels de surface, une approximation de l'énergie potentielle de répulsion est donnée par l'équation suivante :

$$V_R = 2\pi\epsilon a\psi^2 \ln(1 + e^{-\kappa D})$$

Avec κ^{-1} l'épaisseur de la double couche, ϵ la constante diélectrique du milieu, a le rayon des particules, D la distance entre la surface des particules et ψ le potentiel électrique.

ψ peut être assimilé au potentiel zêta (ζ) qui représente le potentiel au niveau du plan de Helmholtz entre la couche diffuse et la couche de Stern (Figure 4). Cependant il ne faut pas le confondre avec la charge de surface de la particule. La mesure du potentiel zêta permet de prédire la force des interactions répulsives et donc la stabilité colloïdale selon la théorie DLVO.

1.3.3 La théorie DLVO

La théorie DLVO est basée sur la compétition entre les interactions attractives et répulsives. Ainsi la stabilité d'un système colloïdal dépend de l'énergie potentielle d'interaction totale (V_T), somme des énergies potentielles de type van der Waals et électrostatique :

$$V_T = V_A + V_R$$

La théorie DLVO permet de déterminer quelle interaction domine en fonction de la distance inter-particulaire (Figure 5).

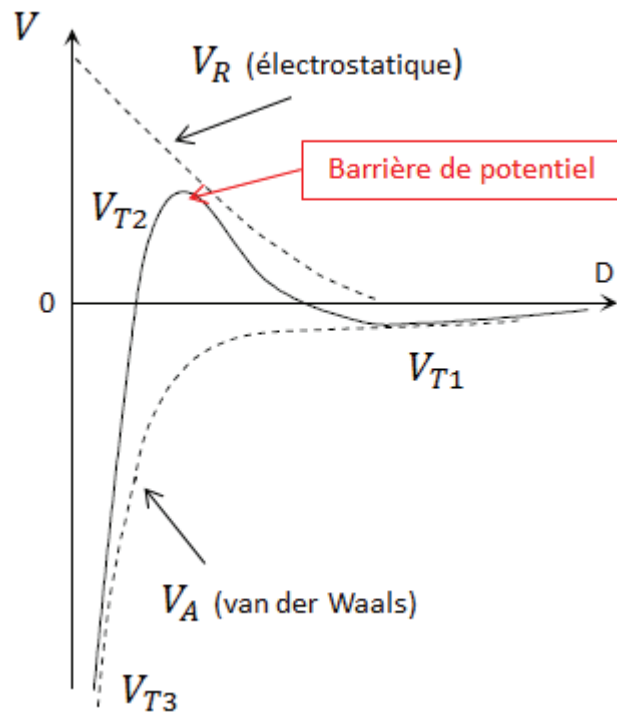


Figure 5 Profil de l'énergie d'interaction totale entre deux surfaces séparées par D selon la théorie DLVO. Les courbes en pointillées représentent les énergies potentielles d'attraction (van der Waals) et de répulsion (électrostatique). La courbe en continu représente l'énergie potentielle issue de l'addition de ces deux interactions.

Les forces d'attraction prédominent quand la distance séparant deux particules est grande (pour V_{T1}). En effet les forces électrostatiques diminuent très rapidement avec la distance (e^{-D}) contrairement aux forces de van der Waals de longue portée. Ce phénomène d'attraction est ensuite contrebalancé par les forces de répulsion à mesure que les particules se rapprochent (V_{T2}). Deux cas sont alors envisageables. Soit les forces électrostatiques sont suffisamment fortes pour empêcher les particules de se rapprocher d'avantage (grande barrière de potentiel). Soit les forces de répulsion ne sont pas assez importantes par rapport aux forces d'attraction (pas de barrière de potentiel) et les particules se rapprochent inexorablement. A très faible distance, le puits de potentiel indique qu'il est quasiment impossible de re-dissocier deux particules en contact du fait des forces d'attraction très fortes (V_{T3}). La stabilité colloïdale selon la théorie DLVO est donc fortement influencée par la valeur de V_R qui est largement dépendante du potentiel zêta. Plus il sera élevé, plus la barrière de potentiel sera haute et plus les particules seront stables vis-à-vis de l'agglomération. Il est important d'ajouter que la force ionique du milieu influence également cette stabilité. En effet l'augmentation de la concentration en ions dans la phase dispersante (et leur valence) provoque une contraction de la double couche électrique et une diminution de V_R .

Afin d'obtenir des solutions colloïdales stables, il faut donc contrebalancer efficacement les interactions de van der Waals. Pour atteindre cet objectif, deux solutions peuvent être envisagées : induire des répulsions électrostatiques supplémentaires ou des répulsions stériques (ou combiner les deux).

1.3.4 Méthodes usuelles de stabilisation induite

Si le système colloïdale utilisé (nature des particules et du solvant, force ionique, pH, concentration massique...) ne permet pas en l'état une stabilisation électrostatique suffisante, il est alors possible de l'augmenter en greffant ou en adsorbant des molécules chargées en surface. Il s'agit alors de choisir judicieusement ces molécules pour qu'elles génèrent un potentiel électrostatique suffisamment élevé pour stabiliser les particules (Figure 6). Le principe de répulsion est identique à celui de la double couche électrique.

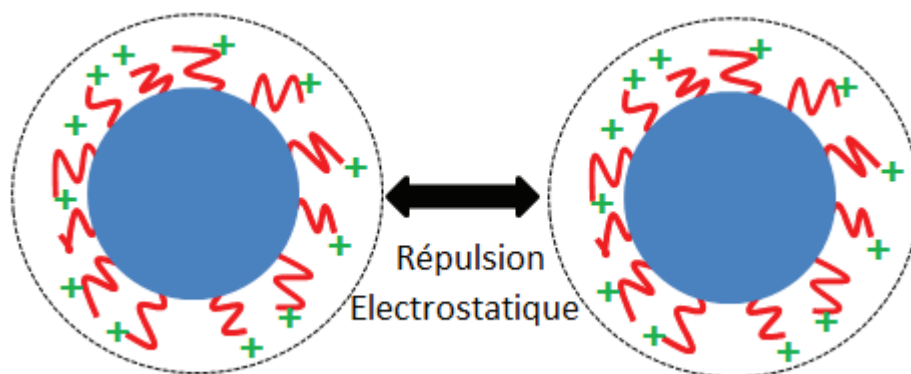


Figure 6 Schéma de principe d'une stabilisation électrostatique par greffage et/ou adsorption de molécules chargées à la surface de particules.

Le greffage de macromolécules à la surface des particules permet aussi de les stabiliser en provoquant un fort encombrement stérique. Ces molécules servent ainsi d'écran impénétrable qui empêche les deux particules de s'agglomérer (Figure 7). Ce type de stabilisation peut être utilisé en milieux aqueux et organique, contrairement à la stabilisation électrostatique, plutôt réservée aux phases aqueuses.

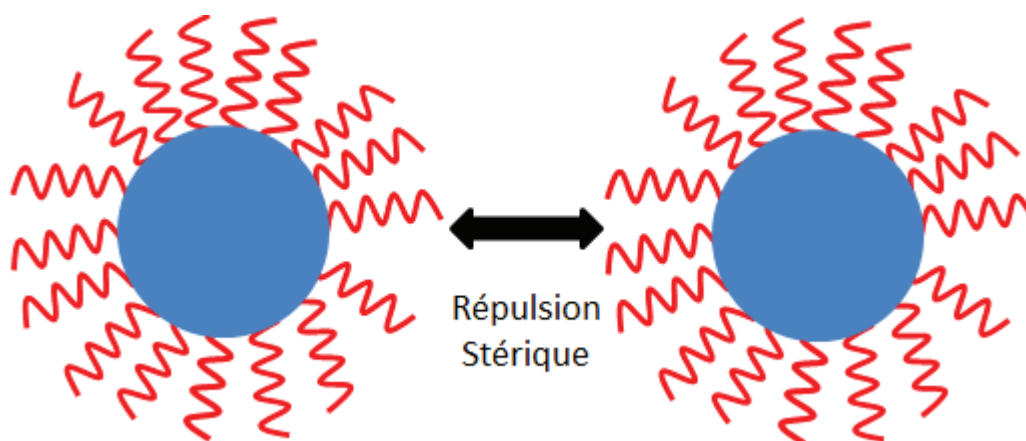


Figure 7 Schéma de principe d'une stabilisation stérique par greffage et/ou adsorption de molécules non chargées à la surface de particules.

1.4 Conclusion

Les caractéristiques intrinsèques des nanoparticules leur confèrent des propriétés remarquables qui sont déjà largement utilisées à l'échelle industrielle. L'effort de recherche considérable effectué sur ce sujet ces dernières années permet également d'envisager de nouvelles applications. Le développement de nouveaux équipements de caractérisation permet en effet une meilleure compréhension de ces objets de taille nanométrique, et ouvre de nouvelles perspectives [26-28]. Cependant si la taille nanométrique de ces matériaux est un avantage en termes de propriétés, elle est en contrepartie problématique vis à vis de leur stabilité, ce qui peut rendre leur mise en œuvre délicate. Les objets de cette taille ne sont en effet pas stables en l'état et ont tendance à s'agglomérer pour retourner à des dimensions macroscopiques, plus favorables énergétiquement. La synthèse de nanoparticules de taille contrôlée, monodisperses, de composition homogène et individualisées est donc particulièrement ardue. Cette difficulté est renforcée par le fait que la caractérisation fine de particules de cette taille et la compréhension des mécanismes de synthèse n'est pas toujours aisée. De nombreux types de particules aux propriétés diverses et obtenues par des voies de synthèse multiples ont ainsi été décrits. La partie suivante se limitera à la description des nanoparticules luminescentes.

2 Nanoparticules luminescentes

Contrairement aux luminophores massifs, les nanoparticules luminescentes présentent l'avantage de pouvoir combiner les propriétés de luminescence et les propriétés liées aux dimensions nanométriques des objets. Elles peuvent ainsi être dispersées dans un support de manière invisible et émettre une luminescence uniquement sous une excitation adéquate. Ceci peut être particulièrement intéressant si un matériau doit rester transparent quand il n'est pas excité. Cela représente également un grand intérêt quand le marquage doit rester indétectable à l'œil nu pour des raisons de sécurité. Un autre avantage des nanoparticules luminescentes concerne les applications de traçage. En effet en mesurant la lumière émise par ces particules il est possible d'étudier le devenir de ces objets dans différents milieux. C'est un outil particulièrement utile pour étudier l'éventuelle toxicité des nanoparticules par exemple [29]. Ces nano-traceurs luminescents peuvent également être utilisés comme marqueurs spécifiques de molécules biologiques d'intérêt (anticorps, protéines...)[30].

2.1 Définition de la luminescence

Lorsqu'un atome ou une molécule absorbe un photon alors qu'elle était dans son état électronique fondamental, elle passe à un état électronique d'énergie supérieure, dit « état excité ». Cet état n'étant pas la configuration électronique de plus basse énergie, il n'est pas stable et la molécule va chercher à regagner son état fondamental par un processus de désexcitation. La perte d'énergie nécessaire pour se retrouver à l'état fondamental peut se faire soit, par des processus de relaxation vibrationnelle (processus non radiatif), soit par émission d'un photon (processus radiatif). L'énergie du photon émis correspond à la différence d'énergie entre le niveau excité et le niveau fondamental. Les collisions des molécules avec le solvant et les échanges vibrationnels avec les molécules environnantes à l'état solide sont à l'origine des processus de désexcitation non radiatifs (conversion interne). Pour les mécanismes radiatifs, on distingue deux types de luminescence, principalement différenciés par leurs temps caractéristiques d'émission :

- La **fluorescence** correspond à une désexcitation radiative entre deux états singulets. Elle résulte de l'émission d'un photon en association avec le transfert de spin de l'état singulet excité vers un niveau vibrationnel excité de l'état fondamental. La durée de vie de l'état excité est assez courte (de 10^{-12} à 10^{-6} s).
- La **phosphorescence** est une désexcitation radiative d'un état triplet vers un état singulet. Elle nécessite donc une inversion de spin d'un des électrons célibataires, qui est appelée « croisement inter-système ». Ce mécanisme est théoriquement interdit, tout comme le transfert entre des niveaux de multiplicité différente ($T_1 \rightarrow S_0$), c'est pourquoi la durée de vie de phosphorescence est relativement longue (de 10^{-6} à 10 s). Le croisement inter-système nécessaire à ce type de luminescence est favorisé par des atomes lourds comme les lanthanides.

Les différents mécanismes de désexcitation sont schématisés par le diagramme de Perrin-Jablonski (Figure 8).

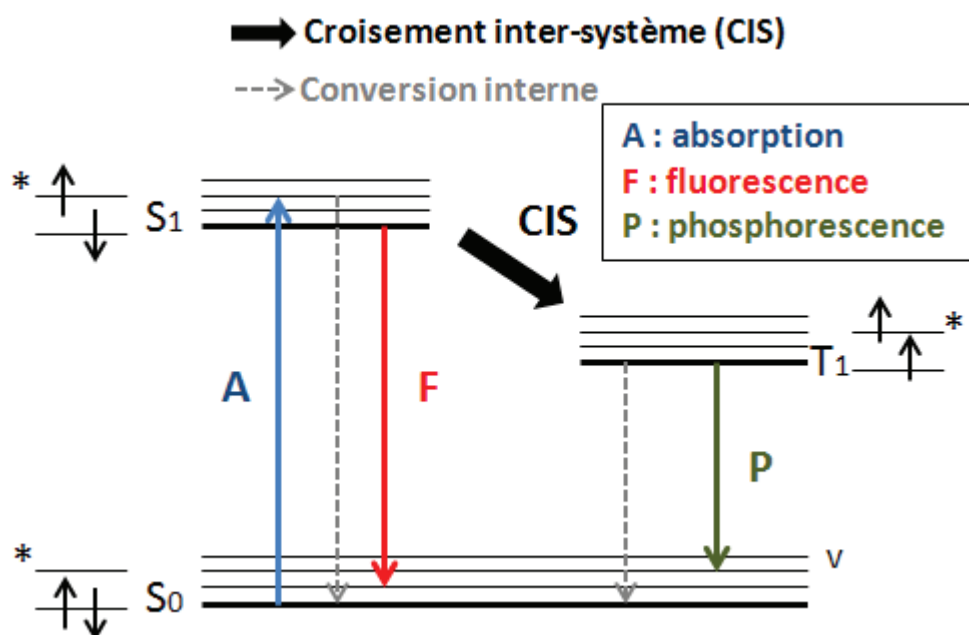


Figure 8 Diagramme de Perrin-Jablonski (S : état singulet ; T : état triplet ; v : niveaux vibrationnels).

L'efficacité d'une molécule luminescente est caractérisée par son rendement quantique. Il est défini comme le rapport du nombre de photons émis sur le nombre de photons absorbés pendant un temps donné. Un rendement quantique inférieur à 100 % indique simplement qu'une partie de la désexcitation s'effectue par un processus non radiatif. Il est fortement influencé par la position des niveaux excités et est donc d'autant plus fort que les désexcitations non radiatives sont minimisées. L'environnement du luminophore peut affecter fortement son rendement quantique [31]. Ainsi certaines molécules adsorbées ou greffées à la surface des nanoparticules peuvent entraîner des désexcitations non-radiatives (par les liaisons O-H ou N-H par exemple), entraînant une diminution du rendement quantique. La surface développée par les nanoparticules étant très importante, leur rendement quantique est bien plus faible que celui des matériaux massifs (moins de 40 % contre plus de 80 % respectivement) [3, 32]. Afin de minimiser ces effets, des stratégies d'enrobage des nanoparticules luminescentes avec un matériau inerte (système cœur-coquille) peuvent être mises en place [3].

2.2 Les différents types de nanoparticules luminescentes

Les nanoparticules luminescentes peuvent être grossièrement regroupées en trois catégories de matériaux : les quantum dots semi-conducteurs, les particules inorganiques dopées par des métaux, et les molécules organiques luminescentes incorporées dans des nanoparticules.

2.2.1 Les quantum dots

Ces semi-conducteurs dont la luminescence est fixée par leur taille ont été énormément décrits dans la littérature [33-35]. Les propriétés de luminescence de ces matériaux sont directement affectées par leur taille et leur état de surface. De nombreux travaux ont donc été entrepris pour contrôler ces paramètres durant la synthèse. Aujourd'hui la méthode de synthèse à haute température en présence de solvants fortement coordinants permet un contrôle précis de la taille et de l'état de surface [18]. De nombreux quantum dots, de compositions différentes ont ainsi été obtenus de manière contrôlée [36]. Le contrôle de la taille permet aujourd'hui, à partir d'une même composition, d'obtenir des nanoparticules émettant dans tout le domaine visible et dans l'infrarouge (Figure 9) [37]. Il est ainsi possible d'ajuster l'émission de ces composés (en ajustant la taille ou la composition des quantum dots) sous une même longueur d'onde d'excitation.

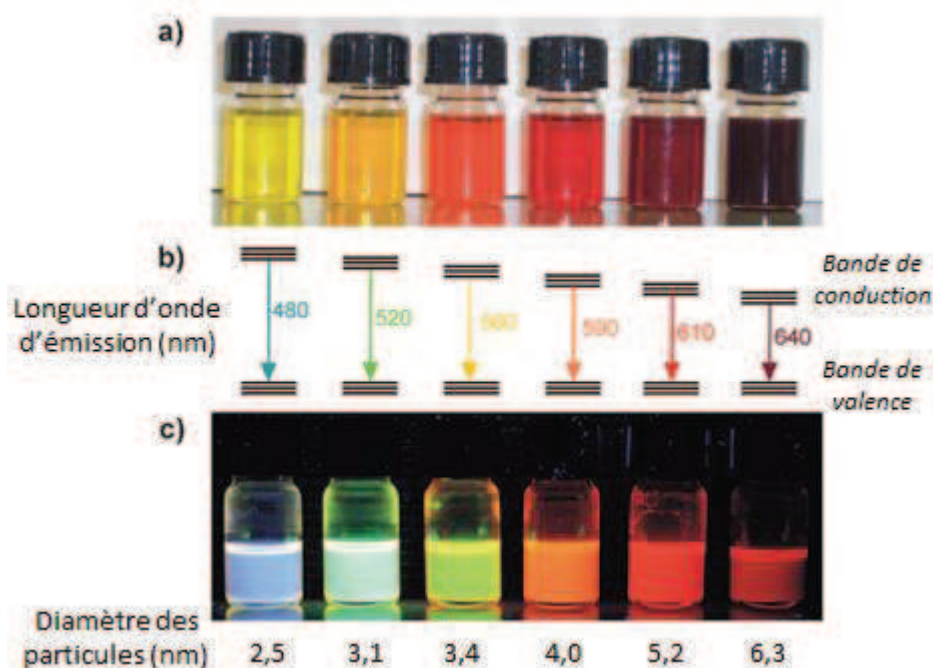


Figure 9 Quantum dots de CdSe de différentes tailles : a) en suspension dans le toluène sous lumière visible b) schéma du diagramme de structure de bandes des semi-conducteurs en fonction de leur taille c) en suspension dans le toluène sous excitation UV [3].

Ces dernières années le développement de nouveaux types de quantum dots avec une structure cœur coquille est en pleine expansion [37]. Dans ce cas le quantum dot (cœur) est entouré par une couche d'un matériau non-luminescent. Cette seconde couche (coquille) permet de diminuer les phénomènes de désexcitation non radiatifs induits par les interactions entre le quantum dot et les molécules adsorbées en surface. Le quantum dot à cœur est ainsi isolé du milieu extérieur et ses propriétés de luminescence sont ainsi grandement améliorées. Il est aussi possible d'empêcher les électrons excités de quitter le cœur en choisissant judicieusement le matériau constituant la coquille.

De tels systèmes ont permis d'obtenir des matériaux avec des rendements quantiques compris entre 60 et 90 %, soit les plus élevés pour des nanoparticules luminescentes [38, 39]. Cependant la complexité des mécanismes de synthèse entraîne des coûts de production élevés. Les quantum dots les plus utilisés à base de Cadmium sont de plus toxiques, non dispersables dans l'eau sans traitement spécifique, peu stables chimiquement et leur luminescence est intermittente (« blinking effect ») [40-43]. L'encapsulation des quantum dots dans des matrices de silice [44-46] ou de polymère [47], ou le greffage de macromolécules en surface [48] peuvent permettre de supprimer un certain nombre de ces inconvénients.

2.2.2 Nanoparticules inorganiques dopées avec des métaux

Les nanoparticules inorganiques dopées par des métaux de transition ou des lanthanides ont également été largement décrites [49]. Dans ce cas, la luminescence ne provient pas d'un effet quantique de taille comme pour les quantum dots mais de l'émission des ions dopants le matériau. Ces nanoparticules sont constituées d'une matrice « hôte » cristallisée dans laquelle sont inclus des ions, pouvant être des lanthanides ou des métaux de transition. La matrice sert également à sensibiliser les ions inclus dans sa structure. En ajustant la composition de la matrice hôte et la nature/quantité des ions dopants, différents spectres d'émission peuvent être obtenus [50-53]. Les nano-cristaux présentant les meilleurs rendements quantiques (supérieurs à 50%) sont $\text{LaPO}_4:\text{Ce,Tb}$ (vert) [54], $\text{ZnS}:\text{Mn}$ (vert) [51, 55], $\text{YVO}_4:\text{Eu}$ (rouge) [52, 56]. L'intérêt de ces particules est de pouvoir utiliser différents ions dopants dans une même matrice, et ainsi de pouvoir combiner différentes émissions sous une même excitation [56]. Contrairement aux quantum dots, ces nanoparticules ne souffrent pas du phénomène de « blinking effect » [49]. En revanche, de même que pour les quantum dots, la synthèse de ces nanoparticules doit être parfaitement contrôlée. En effet des impuretés ou des défauts dans la structure des cristaux peuvent avoir des effets très néfastes sur les propriétés de luminescence. Dans ce cas aussi, des structures cœur-coquille ont été envisagées pour améliorer les propriétés des nano-cristaux.

2.2.3 Nanoparticules dopées par des molécules luminescentes

Dans ce cas, des molécules luminescentes sont incorporées dans des nanoparticules de différentes natures. Les molécules peuvent être incorporées par liaisons covalentes aux nanoparticules [57], ou par interactions faibles [58]. Contrairement aux deux autres catégories présentées précédemment, les nanoparticules servent ici uniquement de support, ou de « réservoir » à luminophores. Le confinement de ces molécules à l'échelle nanométrique présente plusieurs intérêts, en plus de rendre des objets de taille nanométrique luminescents. En effet par rapport à l'utilisation de ces molécules en solution, leur incorporation permet de les protéger du milieu extérieur, de les solubiliser dans différents solvants et d'augmenter leur stabilité vis-à-vis du photo-blanchiment [59]. De plus, des milliers de molécules peuvent être incorporées par nanoparticule, ce qui permet dans le cas d'un marqueur d'avoir une émission très intense et donc une très bonne sensibilité de détection. Les matériaux les plus utilisés pour synthétiser ces nanoparticules sont la silice [60-62] et les polymères [63-65]. Ces particules ont des surfaces très réactives qui permettent une fonctionnalisation aisée. Contrairement aux deux autres catégories de nanoparticules, la « qualité » des nanoparticules n'affecte pas les propriétés de luminescence, qui dépendent plutôt de la molécule incorporée. En revanche, les fluorophores se dégradent rapidement sous excitation et perdent ainsi leur propriétés de luminescence, ce phénomène est appelé photo-blanchiment. Néanmoins elles restent largement utilisées car elles sont plus simples à synthétiser (non cristallisée,

ré-enrobage non requis) et peu toxiques. Les molécules luminescentes incorporées peuvent être divisées en deux catégories : les chromophores organiques et les organolanthanides.

- De nombreux chromophores organiques sont disponibles commercialement, les principales familles utilisées sont : les coumarines (~ 450 nm), les fluorescéines (~ 520 nm), les rhodamines (~ 550 nm) et les cyanines (~ 830 nm). Ils permettent de couvrir toute la largeur spectrale du proche UV au proche infrarouge. Ils possèdent généralement des rendements quantiques élevés dans le visible (92% pour la fluorescéine [66]). L'émission dans l'infrarouge est en revanche moins intense car elle est plus sensible aux désexcitations non radiatives (1,6 % pour les cyanines). Ces composés sont caractérisés par un temps de vie très faible (de l'ordre de la nanoseconde). La grande diversité de chromophores disponibles et leur coût relativement faible rendent ces composés très attractifs pour réaliser des nanoparticules luminescentes. Cependant elles souffrent de plusieurs inconvénients qui limitent leur utilisation pour certaines applications. Les spectres d'émission et d'excitation de ces composés se chevauchent (faible déplacement de Stokes, *i.e.* différence entre les longueurs d'onde d'excitation et d'émission) ce qui rend le filtrage entre la lumière incidente diffusée (excitation) et le signal émis difficile (Figure 10). De plus, ces spectres sont très larges rendant l'utilisation simultanée de différents composés difficile. Enfin ces molécules sont très sensibles au photo-blanchiment.

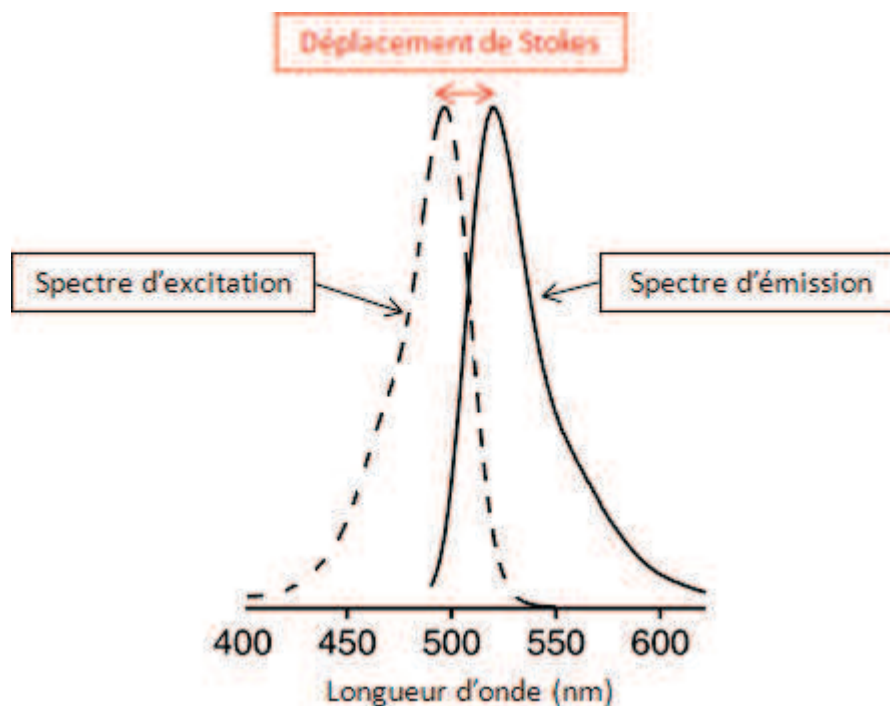


Figure 10 Spectres d'excitation (pointillé) et d'émission (continu) de la rhodamine 110 dans l'eau.

- Les organolanthanides sont en revanche caractérisés par des déplacements de Stokes très importants et par des temps de vie longs (de l'ordre de la milliseconde). Ils sont constitués d'une partie organique et d'un atome de terre rare. En fonction du lanthanide utilisé il est possible de couvrir toute la gamme spectrale, du visible à l'infrarouge. De plus les spectres d'émission des terres rares sont composés de plusieurs pics extrêmement fins,

particulièrement adaptés pour des applications de codage. Les propriétés remarquables de cette famille d'atomes ont donc été très utilisées [49, 67]. Cependant leur coefficient d'extinction molaire très faible et leur bande d'absorption très étroite rendent leur sensibilisation par excitation directe difficile [68]. Des méthodes alternatives de sensibilisation ont donc été développées. Ce type de molécule étant celui choisi dans le cadre de cette thèse, la section 3 de ce chapitre leur est consacrée. La partie suivante présente les domaines d'application visés mettant en œuvre des nanoparticules luminescentes.

2.3 Applications des nanoparticules luminescentes

Les différents types de nanoparticules communément utilisés ont été présentés précédemment. Ces trois catégories de nanomatériaux luminescents ont été développées pour diverses applications et notamment celles visées dans cette thèse. Les concepts de traçage/marquage pour l'imagerie en milieu biologique et pour la lutte anti-contrefaçon sont présentés ci-dessous. A travers ces deux exemples d'application, les propriétés requises pour la synthèse de particules luminescentes performantes seront définies.

2.3.1 Marquage de matériaux : lutte anti-contrefaçon

L'Institut National de la Propriété Industrielle définit la contrefaçon comme « la reproduction, l'imitation ou l'utilisation totale ou partielle d'un droit de propriété intellectuelle sans l'autorisation de son propriétaire. Il peut s'agir d'une marque, d'un modèle, d'un brevet, d'un droit d'auteur, d'un logiciel, d'un circuit intégré ou d'une obtention végétale ». En 2011, la douane française a saisi près de 9 millions d'articles contrefaits (+ 42% par rapport à 2010). L'augmentation des produits ne répondant pas aux normes en vigueur et potentiellement dangereux pour la santé et la sécurité est inquiétante. Les principaux secteurs concernés sont le textile (1,9 millions), les produits de papeterie, les articles de bricolage (1,3 millions), les parfums et cosmétiques, les produits alimentaires et la téléphonie mobile. Autre tendance, la croissance des commandes particulières sur Internet va de pair avec le renforcement des contrôles du fret express et postal : 16% des saisies réalisées. Pour lutter contre ce phénomène, les industriels et les gouvernements s'organisent. En effet le nombre d'articles contrefaits ne cessant d'augmenter, ils représentent une part de marché devenue non-négligeable, et donc un manque à gagner important pour les entreprises. La problématique pour ces dernières est donc de pouvoir faire la différence entre leur produit original et le même produit contrefait. De plus, le risque encouru par l'entreprise est grand puisque un tiers utilise son image/réputation pour vendre un produit de plus mauvaise qualité, qui peut être dangereux pour l'utilisateur dans certains cas (médicaments, nourriture...). Il s'agit donc de pouvoir prouver la contrefaçon pour les autorités en cas d'enquête/saisie, ou pour l'entreprise en cas de poursuite juridique par un consommateur. L'enjeu majeur est donc de pouvoir fournir des systèmes d'authentification fiables et difficilement reproductibles/détectables pour les contrefacteurs, tout en conservant une compétitivité économique. Il existe différentes techniques de marquage pour la lutte anti-contrefaçon. Certaines sont visibles à l'œil nu ce qui permet une authentification immédiate avec un équipement de lecture adapté. Dans ce cas le type de marquage, visible de tous, doit être particulièrement difficile à reproduire. C'est notamment le cas des codes-barres (linéaires ou à deux dimensions), des hologrammes ou des étiquettes RFID (Radio Frequency IDentification). D'autres en revanche sont invisibles, et seules les personnes initiées peuvent alors vérifier sa présence. Les marqueurs à ADN

par exemple, et bien sûr les nanoparticules luminescentes appartiennent à cette catégorie. Un aperçu plus complet des techniques de lutte anti contrefaçon est dressé dans la thèse de J. Samuel [69].

Les nanoparticules luminescentes peuvent ainsi être dispersées dans différents matériaux en ajustant leur réactivité par fonctionnalisation de leur surface. Du fait de leur petite taille ils sont invisibles, ce qui permet un meilleur niveau de sécurité, tout en conservant l'apparence du produit marqué. De plus la luminescence des trois types de nanoparticules présentées précédemment peut être ajustée. Cette propriété remarquable est particulièrement adaptée quand il s'agit de créer des codes optiques. En effet le fait d'avoir accès à des signaux d'émission différents permet de créer des codes complexes et originaux difficilement reproductibles. Il permet également d'introduire de l'information en associant un code spécifique à une donnée. Le principe de base est de combiner plusieurs signaux d'émission en utilisant des composés différents à différentes concentrations. Le code est alors basé sur la superposition de spectres d'émission d'intensités et de longueurs d'ondes variables. Le principe de code optique est schématisé à la Figure 11.

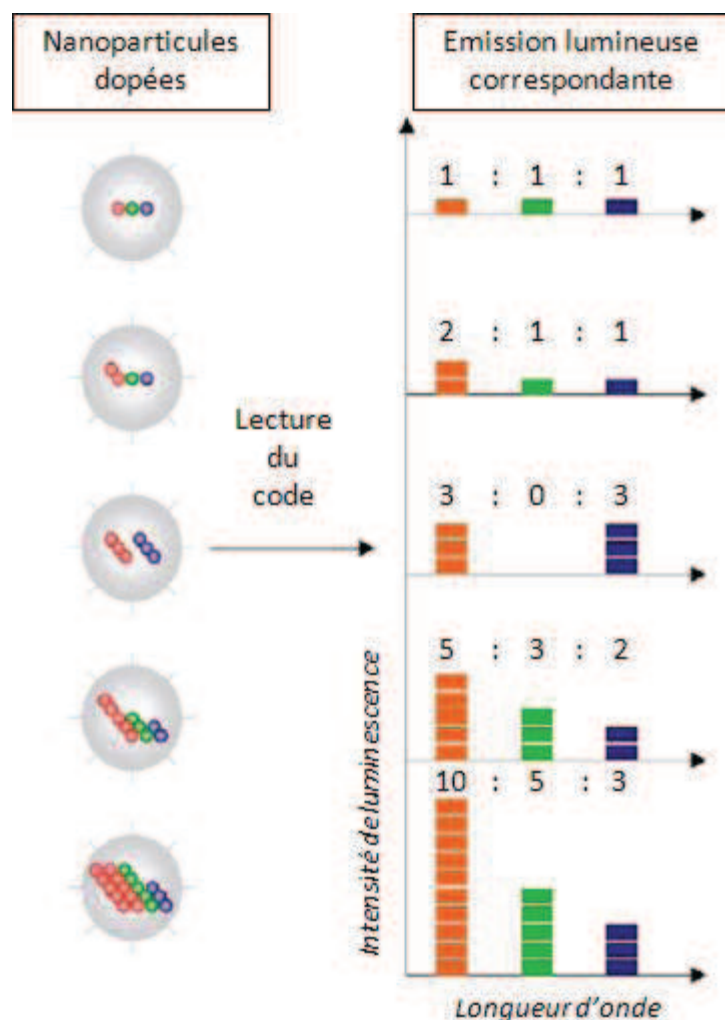


Figure 11 Schéma de principe pour la création de codes optiques à base de nanoparticules luminescentes. Les trois couleurs représentent des spectres d'émission différentiables. [47]

Ainsi il est théoriquement possible de générer un très grand nombre de codes à condition d'être capable de pouvoir différencier les différents signaux d'émission (*i.e.* peu ou pas de superposition des

spectres), et de contrôler l'intensité de luminescence sur une large gamme (*i.e.* quantité incorporée) [70]. Plusieurs études ont démontré ce concept en utilisant par exemple des quantum dots [47], ou des terres rares [71].

2.3.2 Imagerie en milieu biologique

L'un des domaines d'application des nanoparticules luminescentes suscitant le plus d'intérêt est certainement celui de l'imagerie biomédicale. Le concept de base est d'utiliser la taille nanométrique de ces objets pour interagir avec des molécules d'intérêt biologique et de révéler leur localisation par luminescence, soit pour étudier des mécanismes de métabolisation, soit en vue de faire de la thérapie ciblée. La première utilisation d'un agent exogène (*i.e.* extérieur) pour l'étude biologique a été effectuée par Yalow et Berson [72] avec un marqueur radioactif. Les nanoparticules luminescentes, d'utilisations moins contraignantes, l'ont depuis largement supplanté et le nombre de travaux traitant de ce sujet ne cesse d'augmenter [33, 49, 60, 73-77]. La luminescence peut être par exemple utilisée pour suivre le devenir des nanoparticules dans un organisme biologique afin d'étudier une éventuelle toxicité [29, 78] (Figure 12, exemple de gauche). Les nanoparticules luminescentes peuvent également être fonctionnalisées pour se greffer spécifiquement (*i.e.* vectorisation) sur des biomolécules comme des anticorps, des peptides, des cellules tumorales ou des oligonucléotides par exemple [30, 75] (Figure 12, exemple de droite). Les fonctions de surface les plus couramment utilisées sont les thiols, les amines et les acides carboxyliques [62]. En ajustant la taille des objets il est aussi possible de contrôler leur diffusion à travers des tissus/membranes biologiques.

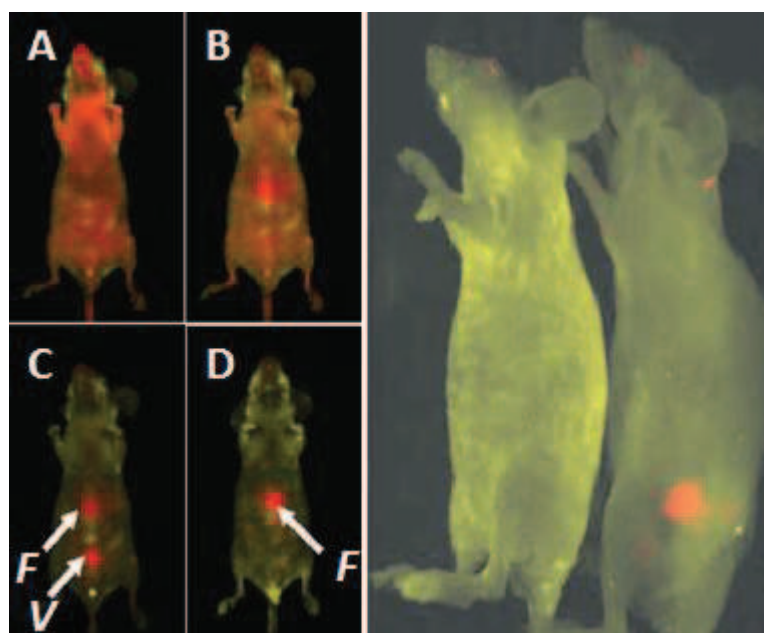


Figure 12 Exemples d'images in vivo. A gauche étude de la diffusion de nanoparticules de silice rendues luminescentes par dopage (rouge) injectées dans une souris. Evolution de la concentration en nanoparticules dans les différents organes au cours du temps : A) 1 minutes B) 1,5 heures C) 3 heures D) 24 heures après l'injection (F=foie ; V=vessie) [78]. A droite des quantum dots fonctionnalisés (rouges) permettent de réagir spécifiquement avec une tumeur cancéreuse et de la mettre en évidence [75].

Les nanoparticules peuvent également être perçues comme des nano-réservoirs. Ainsi de nombreuses molécules peuvent être incorporées, comme par exemple des médicaments (relargage contrôlé) [79], des agents de contraste (analyses IRM) [20, 80-82] ou encore des luminophores [57, 60, 74, 77, 83]. Pour ce dernier exemple, le fait d'incorporer une grande quantité de matériaux

luminescents dans une particule permet d'obtenir un signal d'émission très intense, et ainsi d'augmenter la sensibilité de l'analyse (Figure 13) [61]. Le principe de codes optiques, présenté dans la partie anti-contrefaçon (2.3.1), a aussi été utilisé pour l'analyse biomédicale. Le terme « multiplexing » est alors employé [47, 64, 84-86]. Le principe de base est de pouvoir détecter simultanément plusieurs sites/molécules biologiques spécifiques : le code optique porté par la nanoparticule est caractéristique de sa fonction de surface, et donc de sa réactivité vis-à-vis de la molécule ciblée. Ce type d'analyse permet d'avoir accès à plusieurs informations simultanément et donc de réduire le nombre d'injections nécessaires.

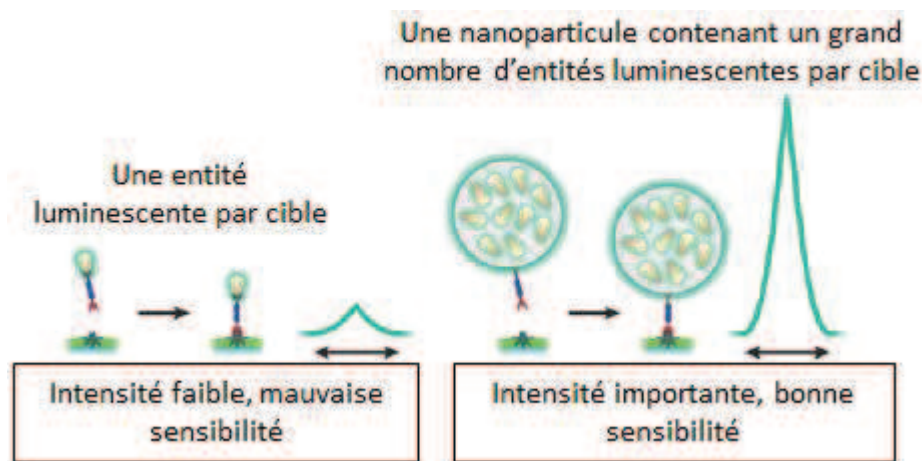


Figure 13 Différence d'intensité entre l'utilisation d'une entité lumineuse seule et d'une nanoparticule pouvant en contenir plusieurs milliers [61]

La fluorescence intrinsèque du milieu biologique engendre un bruit de fond qui parasite la qualité de l'analyse en se superposant au signal de la sonde lumineuse nanométrique. Pour pallier à ce problème, la fluorescence en temps résolu a été utilisée. Il s'agit d'utiliser un chromophore avec un temps de vie largement supérieur à celui du milieu biologique (typiquement les terres rares) et d'acquérir le signal émis après un délai qui permet de s'en affranchir (Figure 14). Les nanoparticules luminescentes émettant dans l'infrarouge sont également privilégiées car les tissus biologiques absorbent très peu entre 700 et 1100 nm. Enfin pour être applicables, les particules doivent évidemment être non toxiques et de taille contrôlée pour éviter les risques d'embolie. Une attention particulière doit également être portée sur l'évacuation de ces nanoparticules une fois l'analyse effectuée. Les particules qui se métabolisent avec le temps ou qui s'évacuent par les voies naturelles sont donc privilégiées.

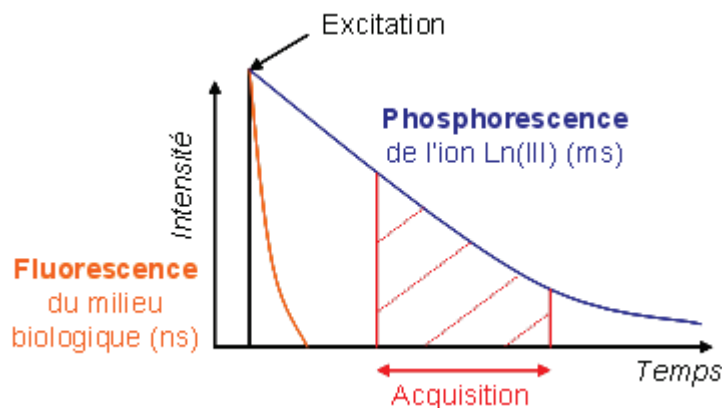


Figure 14 Principe de la luminescence en temps résolu

2.3.3 Caractéristiques d'un traceur luminescent performant

Les qualités requises d'un traceur luminescent performant pouvant être appliqué dans les domaines de l'imagerie biomédicale et de la lutte anti contrefaçon sont résumées ci-dessous :

- **Non-toxique** : pour les applications en milieu biologique, cette caractéristique est évidente. Pour la lutte anti contrefaçon elle est également souhaitable sachant que le marquage peut intervenir sur des matériaux en contact avec des produits consommables.
- **Dispersion contrôlée dans différents milieux** : les nanoparticules doivent être stables dans le sérum physiologique pour les tests biologiques. Pour le marquage anti-contrefaçon il est important d'être capable d'insérer le code d'authentification dans différents matériaux pour répondre aux attentes diverses des industriels.
- **Fonctionnalisation de surface** : elle est surtout importante pour les applications de vectorisation en biologie. Ce point est directement lié au précédent. En effet, la stabilité des nanoparticules peut être obtenue en choisissant judicieusement la nature chimique des particules ou leurs fonctions de surface. Il en est de même pour le marquage de matériaux.
- **Rendement quantique élevé** : peu importe le type d'application, les systèmes luminescents les plus efficaces (*i.e.* avec le rendement quantique le plus élevé et une absorption importante) seront privilégiés.
- **Long temps de vie** : cette caractéristique est surtout importante pour s'affranchir de la fluorescence du milieu biologique. Pour la lutte anti-contrefaçon, les temps de vie (différents pour chaque composé) pourraient être envisagés pour ajouter un niveau de codage. En effet en plus de générer des codes en ajustant le nombre et la quantité de composés, l'évolution de l'émission au cours du temps pourrait être utilisée. Le ratio des pics d'émission entre les différents composés va évoluer en fonction des temps de vie caractéristiques de chacun d'entre eux. Un temps de vie important favoriserait aussi ce type de codage. De plus, comme pour le milieu biologique, le produit marqué peut également être fluorescent.
- **Résistance au photo-blanchiment** : le système luminescent doit résister à des irradiations continues (celle du soleil et de sa longueur d'onde d'excitation) sans perdre ses propriétés de luminescence initiales. Ceci est particulièrement important pour l'anti contrefaçon où l'intégrité du code (basé en parti sur l'intensité de luminescence) doit être garantie pendant la durée de vie du produit.

- **Stabilité chimique** : le système ne doit pas être altéré par le milieu environnant. Une réaction chimique (dissolution, production de sous-produits, relargage d'espèces nocives...) peut en effet modifier les propriétés ou la structure de la sonde luminescente. Dans ce cas, les propriétés de luminescence peuvent être perdues/modifiées. Certaines réactions chimiques peuvent également entraîner la formation/libération d'espèces toxiques.
- **Capacité à générer des codes** : pour générer un nombre important de spectres d'émission originaux et variés, l'entité luminescente de base doit présenter un spectre d'émission fin et un déplacement de Stokes important. En effet la superposition des spectres est le principal obstacle pour générer un nombre important de codes. Le cas idéal est de pouvoir détecter simultanément différents spectres d'émission sous une même longueur d'onde d'excitation.
- **Coût** : il peut en effet être rédhibitoire pour certaines applications industrielles. Il est directement lié au choix des matériaux, mais également à celui du rendement de production, de la difficulté/temps de synthèse et de sa mise en œuvre.

Par rapport à ces prérequis, le système le plus adapté entre les trois catégories de nanoparticules luminescentes présentées au paragraphe 2.2 a été choisi. Il n'y a bien sûr pas de système idéal et les trois types auraient pu être utilisés. Cependant la difficulté liée à l'obtention de nano-cristaux de forme parfaitement contrôlée entraîne des étapes de préparation supplémentaires. Même si aujourd'hui des solutions existent pour contourner ces problèmes, elles imposent aussi des modifications chimiques supplémentaires (ré-enrobage, fonctionnalisation de surface). D'un point de vue général, la synthèse de quantum dots ou des nano cristaux dopés par des métaux semble plus complexe et nécessite systématiquement une modification de leur surface. En conséquence, même si leurs propriétés de luminescence sont adaptées pour les deux applications envisagées dans cette thèse, l'incorporation de molécules luminescentes dans des matrices de taille nanométrique semble plus adaptée. Il s'agit à présent de définir le type de molécule à incorporer. Les chromophores organiques ne répondent pas aux prérequis (photo stabilité et temps de vie faibles, spectres d'émission larges et déplacement de Stokes faible) contrairement aux organolanthanides. De façon générale, les terres rares sont très utilisées pour leurs remarquables propriétés [49, 67]. Leur principale limitation est liée à leur sensibilisation directe difficile. Une des méthodes décrites pour exciter efficacement les lanthanides consiste à utiliser une molécule organique qui sert d'« antenne » [68]. La partie suivante est consacrée aux lanthanides et à ce mode de sensibilisation.

3 Les organolanthanides

3.1 Chimie des lanthanides

On appelle lanthanide (ou terre rare) les 15 éléments de la première période du bloc f du tableau périodique qui vont du lanthane ($Z = 57$) au lutécium ($Z = 71$) (voir Figure 15). A l'exception du lanthane, ces éléments adoptent majoritairement la configuration $[\text{Xe}]6s^2 4f^{n+1}$. La perte d'un électron 4f et des deux électrons 6s conduit à l'ion lanthanide trivalent qui est le degré d'oxydation le plus stable pour toute la série. Ces ions sont notés Ln(III) ou Ln^{3+} .

138,92	140,12	140,91	144,24		150,36	151,97	157,25	158,93	162,50	164,93	167,26	168,93	173,04
La	Ce	Pr	Nd	Pm*	Sm	Eu	Gd	Tb	Dy	Ho	Er	Tm	Yb
57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70

Figure 15 Série des lanthanides

Les orbitales 4f sont protégées des perturbations extérieures par les couches externes $5s^2 5p^6$. Les électrons de valence 4f sont donc peu sensibles à leur environnement chimique et la formation d'une liaison chimique par interaction covalente impliquant des électrons 4f est impossible [31]. L'interaction métal-ligand dans les complexes de Ln(III) est donc décrite par un modèle purement ionique. Les ions lanthanides sont des acides durs, c'est-à-dire des acides de Lewis dont le centre accepteur d'électrons est peu polarisable. Ils interagissent préférentiellement avec des ligands durs, contenant par exemple des atomes d'oxygène donneurs (eau, carboxylates, phosphinates, phosphonates...). On parle de leur caractère « oxophile ». A cause du caractère oxophile des ions lanthanides, seuls les ligands durs peuvent déplacer les molécules d'eau fortement liées à l'ion Ln(III) pour former des complexes stables en solution aqueuse. Une autre conséquence de l'enfouissement des orbitales f dans le nuage électronique est le faible effet du champ des ligands. Ainsi contrairement aux métaux de transition d, les niveaux d'énergie des complexes de Ln(III) sont très proches de ceux de l'ion libre.

Les ions Ln(III) possèdent généralement un nombre de coordination compris entre 8 et 10 qui a tendance à diminuer le long de la série. Ce phénomène est associé à une diminution progressive du rayon ionique due à la contraction des orbitales 5s et 5p, appelée « contraction lanthanidique ». Les ions lanthanides s'adaptent donc à différents environnements, rendant le contrôle de leur polyèdre de coordination difficile.

Tous les ions lanthanides, exceptés le La(III) et le Lu(III) (de configurations respectives $4f^0$ et $4f^{14}$) sont luminescents. En théorie, les transitions f-f sont interdites par les règles de sélection électrique dipolaire (règle de Laporte et règle du Spin). C'est pourquoi ils possèdent un coefficient d'extinction molaire faible (entre 1 et $10 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) et une durée de vie d'émission de luminescence longue pour certains lanthanides (de l'ordre de la milliseconde pour les ions Eu(III) et Tb(III)).

Au cours de la série des lanthanides, différentes efficacités de luminescence sont observées en fonction de la différence d'énergie entre les niveaux excités et le niveau fondamental (Figure 16). Plus la différence d'énergie est faible, plus les processus de désexcitation non radiatifs sont probables. Actuellement les ions les plus utilisés comme sondes luminescentes pour l'imagerie médicale sont le Tb(III) et l' Eu(III) qui ont des temps de vie raisonnables et émettent dans le visible

(vert et rouge respectivement) [31, 87]. Les ions Nd(III) et Yb(III) qui émettent dans l'infrarouge sont quant à eux utilisés dans le développement de fibres optiques, de lasers et d'amplificateurs pour les télécommunications [88]. Mais leur utilisation en tant que sonde pour l'imagerie est actuellement en plein essor. En effet, les molécules présentes dans le milieu biologique deviennent transparentes aux longueurs d'ondes supérieures à 720 nm. Le fait de pouvoir déplacer l'émission vers l'infrarouge suscite donc un très grand intérêt à l'heure actuelle pour l'imagerie biomédicale. L'ion Gd(III) qui émet dans l'ultraviolet est en revanche très peu utilisé car son émission interfère avec les processus d'absorption et d'émission des composés organiques biologiques. Il est plutôt utilisé comme agent de contraste [80, 89].

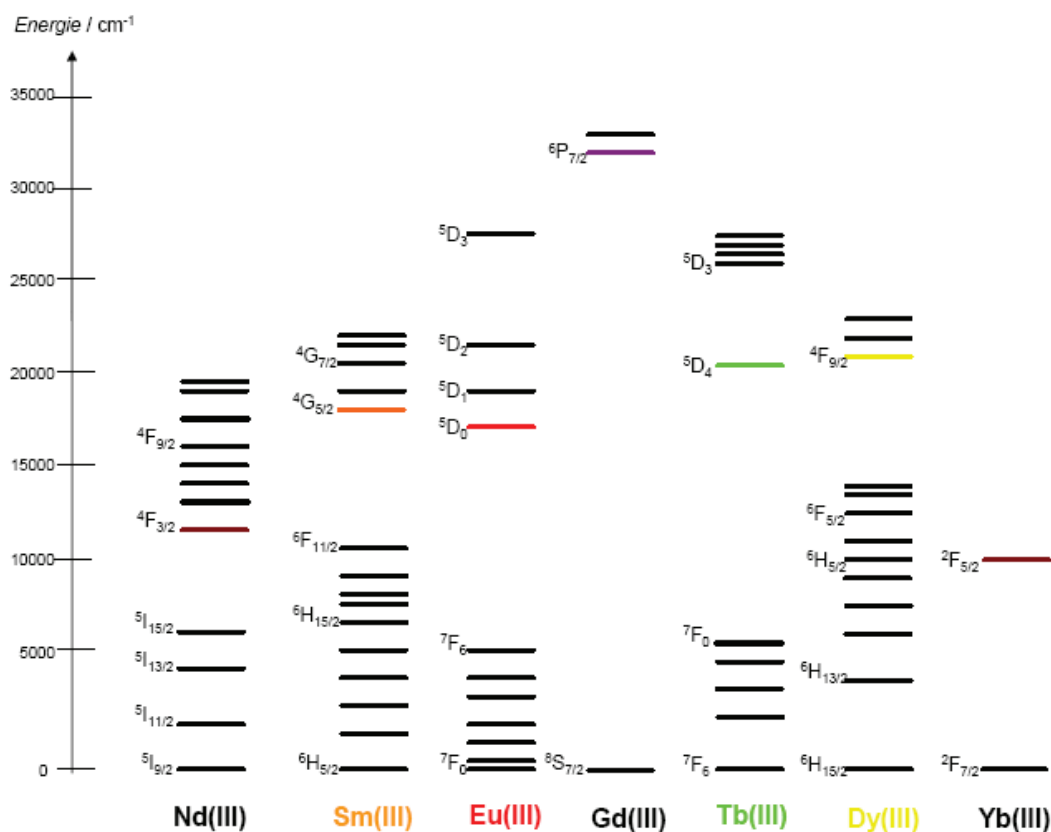


Figure 16 Diagramme partiel d'énergies pour les ions Ln(III) en milieu aqueux (les niveaux d'émission sont représentés en couleur) [68]

En plus de leurs propriétés de luminescence, les ions Ln(III) sont paramagnétiques (sauf La(III) et Lu(III)). Le Gd(III) est particulièrement intéressant du fait, de ses sept électrons non appariés ($S = 7/2$) qui lui confèrent un moment magnétique élevé, et de son temps de relaxation électronique long comparé aux autres Ln(III). Les complexes de Gd(III) sont donc beaucoup utilisés comme agents de contraste pour l'Imagerie par Résonance Magnétique (IRM) [90, 91], comme cela sera détaillé au chapitre 4.

3.2 Sensibilisation des lanthanides par effet d'antenne

Le faible coefficient d'extinction molaire des Ln(III) représente cependant un inconvénient majeur à leur utilisation. En effet ils ne peuvent être excités que par des sources laser dont la puissance n'est pas compatible avec des applications biologiques. Une des solutions utilisées est de les incorporer dans des complexes organiques adaptés, permettant ainsi de les exciter au moyen de sources lumineuses classiques. Un ou plusieurs chromophores organiques jouant le rôle d'antennes sont ainsi incorporés au ligand. Après excitation du complexe, un transfert d'énergie vers le Ln(III) permet d'exciter ce dernier et l'émission de la terre rare est ainsi observée (Figure 17). Le mécanisme de transfert d'énergie se déroule en plusieurs étapes mettant en jeu les états triplets. Après absorption du photon, le chromophore organique se trouve dans son état excité singulet, puis triplet par un croisement intersystème. Il y a ensuite transfert d'énergie de l'état triplet du ligand vers celui du lanthanide, et enfin relaxation du métal par phosphorescence. Le ligand doit donc être compatible avec les phénomènes décrits ci-dessus pour que le système soit efficace.

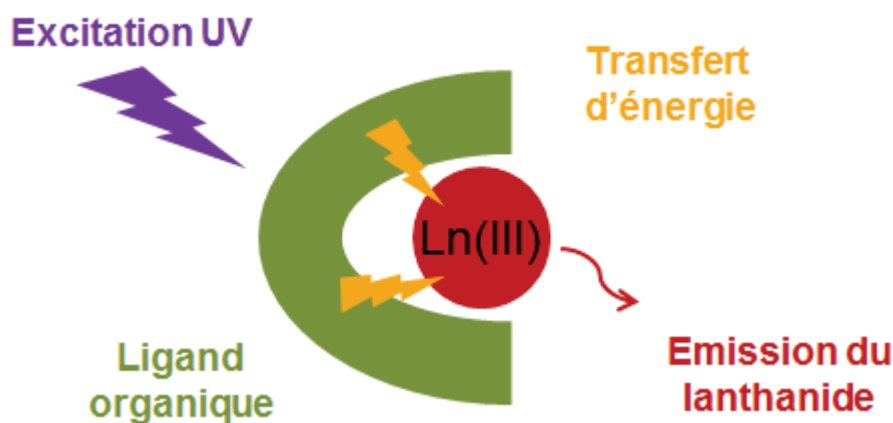


Figure 17 Principe de la sensibilisation de Ln(III) par « effet d'antenne ».

En plus des propriétés nécessaires pour sensibiliser efficacement le lanthanide, d'autres paramètres entrent en considération pour la conception des ligands. Les désexcitations non radiatives liées aux liaisons O-H du solvant ou aux vibrations de celles du ligand doivent être minimisées. En interagissant avec les niveaux électroniques des états excités du lanthanide, ces processus entraînent une baisse de la luminescence. Ce phénomène est d'autant plus faible que la différence d'énergie entre l'état fondamental et l'état excité du lanthanide est grande (plus marqué pour Eu(III) que pour Tb(III) par exemple). Les complexes dont la sphère de coordination est saturée sont ainsi privilégiés car ils empêchent la coordination de molécules d'eau avec le lanthanide. La stabilité chimique de ces complexes est également primordiale, une décoordination du lanthanide, en plus des problèmes de toxicité, provoquerait une perte de la luminescence.

Il est ainsi théoriquement possible d'utiliser les spectres d'émission des différents lanthanides pour la génération de codes optiques. Ces systèmes présentent en effet toutes les propriétés de luminescence requises : spectres d'émission fins, allant du visible à l'infrarouge en fonction du lanthanide utilisé (Figure 18), déplacement de Stokes et temps de vie importants.

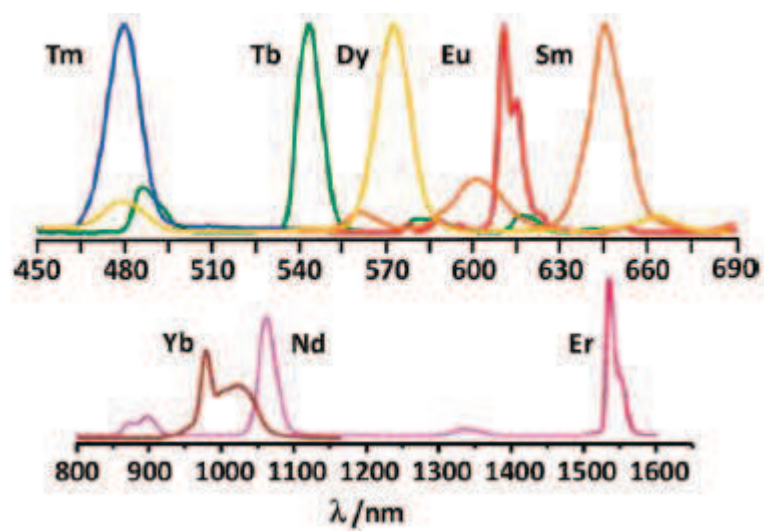


Figure 18 Spectres de luminescence de quelques complexes de lanthanides à base de tris(β -dicétones) [87]

4 Conclusion

Ce premier chapitre a été l'occasion de dresser un rapide aperçu des différents types de nanoparticules, de leur synthèse, de leurs propriétés et de leurs applications. Les contraintes inhérentes à l'utilisation de tels systèmes et les solutions associées ont également été présentées. Différents matériaux ont été considérés pour le développement de nanoparticules luminescentes dédiées à des applications de marquage pour la lutte anti-contrefaçon ou l'imagerie biomédicale. Le dopage de nanoparticules sphériques par des complexes de lanthanide a été retenu. En effet, les propriétés de luminescence de ce type de complexes sont adaptées pour les applications visées : raies d'émission fines du visible à l'infrarouge, large déplacement de Stokes, temps de vie long... De plus, le fait de pouvoir choisir la nature des nanoparticules permet de diversifier les propriétés des objets luminescents finaux. Ainsi deux types de matériaux ont été choisis dans cette étude. La silice amorphe et les polymères dont les procédés de synthèse ont été largement décrits, et qui sont fréquemment utilisés pour la synthèse d'objets similaires. Les particules de silice amorphe n'étant pas toxiques et très facilement fonctionnalisables [61, 77, 91], c'est un matériau incontournable pour les applications biomédicales [61, 73, 74, 85]. Les particules de polymère, qui sont également utilisées en biologie [64, 86, 92-94], présentent en plus une grande flexibilité d'utilisation et de mise en forme. Il s'agit ainsi de maîtriser l'incorporation non covalente de différents complexes de lanthanides dans des nanoparticules de silice ou de polymère. La stabilité de l'incorporation a également été étudiée, car si la matrice est biocompatible, il n'en est pas forcément de même pour les molécules encapsulées qui sont susceptibles de diffuser à l'extérieur. La description des synthèses et les caractérisations des nanoparticules luminescentes de silice et de polymère sont présentées respectivement aux chapitres 2 et 3. Le dernier chapitre est consacré à l'étude de deux types de nanoparticules développés pendant ce travail de thèse : des nanoparticules de polymère multi-luminescentes (multiplexing) et des nanoparticules de silice dopées par un complexe de Gd(III) (agent de contraste).

Bibliographie du chapitre 1

1. **Morse, M.D.**, Clusters of transition-metal atoms. *Chemical Reviews*, **1986**. 86(6): p. 1049-1109.
2. **Henglein, A.**, Small-Particle Research - Physicochemical Properties of Extremely Small Colloidal Metal and Semiconductor Particles. *Chemical Reviews*, **1989**. 89(8): p. 1861-1873.
3. **Goesmann, H. and C. Feldmann**, Nanoparticulate Functional Materials. *Angewandte Chemie-International Edition*, **2010**. 49(8): p. 1362-1395.
4. **Edwards, P.P. and J.M. Thomas**, Gold in a Metallic Divided State—From Faraday to Present-Day Nanoscience. *Angewandte Chemie International Edition*, **2007**. 46(29): p. 5480-5486.
5. **Daniel, M.-C. and D. Astruc**, Gold Nanoparticles: Assembly, Supramolecular Chemistry, Quantum-Size-Related Properties, and Applications toward Biology, Catalysis, and Nanotechnology. *Chemical Reviews*, **2003**. 104(1): p. 293-346.
6. **Popov, A.P., A.V. Priezzhev, J. Lademann, and R. Myllylä**, The effect of nanometer particles of titanium oxide on the protective properties of skin in the UV region. *J. Opt. Technol.*, **2006**. 73(3): p. 208-211.
7. **Thomas, J. and R. Raja**, The advantages and future potential of single-site heterogeneous catalysts. *Topics in Catalysis*, **2006**. 40(1): p. 3-17.
8. **Shiju, N.R. and V.V. Guliants**, Recent developments in catalysis using nanostructured materials. *Applied Catalysis A: General*, **2009**. 356(1): p. 1-17.
9. **Newbery, A.P., B.Q. Han, E.J. Lavernia, C. Suryanarayana, and J.A. Christodoulou**, *Mater. Process. Handb.*, **2007**. 13.
10. **Gutsch, A., H. Mühlenweg, and M. Krämer**, Tailor-Made Nanoparticles via Gas-Phase Synthesis. *Small*, **2005**. 1(1): p. 30-46.
11. **Burda, C., X. Chen, R. Narayanan, and M.A. El-Sayed**, Chemistry and Properties of Nanocrystals of Different Shapes. *Chemical Reviews*, **2005**. 105(4): p. 1025-1102.
12. **Cushing, B.L., V.L. Kolesnichenko, and C.J. O'Connor**, Recent Advances in the Liquid-Phase Syntheses of Inorganic Nanoparticles. *Chemical Reviews*, **2004**. 104(9): p. 3893-3946.
13. **Jun, Y.-W., J.-S. Choi, and J. Cheon**, Shape Control of Semiconductor and Metal Oxide Nanocrystals through Nonhydrolytic Colloidal Routes. *Angewandte Chemie International Edition*, **2006**. 45(21): p. 3414-3439.
14. **Dwars, T., E. Paetzold, and G. Oehme**, Reactions in Micellar Systems. *Angewandte Chemie International Edition*, **2005**. 44(44): p. 7174-7199.
15. **Jeong, U., Y. Wang, M. Ibisate, and Y. Xia**, Some New Developments in the Synthesis, Functionalization, and Utilization of Monodisperse Colloidal Spheres. *Advanced Functional Materials*, **2005**. 15(12): p. 1907-1921.
16. **Park, J., J. Joo, S.G. Kwon, Y. Jang, and T. Hyeon**, Synthesis of Monodisperse Spherical Nanocrystals. *Angewandte Chemie International Edition*, **2007**. 46(25): p. 4630-4660.
17. **LaMer, V.K. and R.H. Dinegar**, Theory, Production and Mechanism of Formation of Monodispersed Hydrosols. *Journal of the American Chemical Society*, **1950**. 72(11): p. 4847-4854.
18. **Murray, C.B., D.J. Norris, and M.G. Bawendi**, Synthesis and characterization of nearly monodisperse CdE (E = sulfur, selenium, tellurium) semiconductor nanocrystallites. *Journal of the American Chemical Society*, **1993**. 115(19): p. 8706-8715.
19. **Myers, D.**, Surfaces, Interfaces and Colloids **1999**, Weinheim: Wiley-VCH.
20. **Bridot, J.L., A.C. Faure, S. Laurent, C. Riviere, C. Billotey, B. Hiba, M. Janier, V. Josserand, J.L. Coll, L. Vander Elst, R. Muller, S. Roux, P. Perriat, and O. Tillement**, Hybrid gadolinium oxide nanoparticles: Multimodal contrast agents for in vivo imaging. *Journal of the American Chemical Society*, **2007**. 129(16): p. 5076-5084.
21. **Tadros, T.F.**, Applied Surfactants **2005**, Weinheim: Wiley-VCH.

22. **Canseco Ruiz, V.**, Transport de colloïdes en milieu poreux : étude expérimentale. *Thèse de l'Université de Bordeaux 1*, **2009**.
23. **Wennerstrom, H.**, The van der Waals interaction between colloidal particles and its molecular interpretation. *Colloids and Surfaces a-Physicochemical and Engineering Aspects*, **2003**. 228(1-3): p. 189-195.
24. **Rosen, M.J.**, Surfactants and Interfacial Phenomena **2004**, Hoboken, New Jersey: John Wiley.
25. **Diop, B.N.**, Élaboration de nanoparticules hybrides multifonctionnelles à base de silice par microémulsion inverse. Application à la conception d'un agent antibactérien. *Thèse de l'Université Claude Bernard, Lyon 1* **2010**.
26. **Muller, D.A.**, Structure and bonding at the atomic scale by scanning transmission electron microscopy. *Nat. Mater.*, **2009**. 8(4): p. 263-270.
27. **Wouters, D. and U.S. Schubert**, Nanolithography and Nanochemistry: Probe-Related Patterning Techniques and Chemical Modification for Nanometer-Sized Devices. *Angewandte Chemie International Edition*, **2004**. 43(19): p. 2480-2495.
28. **Loos, J.**, The Art of SPM: Scanning Probe Microscopy in Materials Science. *Advanced Materials*, **2005**. 17(15): p. 1821-1833.
29. **Hussain, S.M., L.K. Braydich-Stolle, A.M. Schrand, R.C. Murdock, K.O. Yu, D.M. Mattie, J.J. Schlager, and M. Terrones**, Toxicity Evaluation for Safe Use of Nanomaterials: Recent Achievements and Technical Challenges. *Advanced Materials*, **2009**. 21(16): p. 1549-1559.
30. **Xia, Y.**, Nanomaterials at work in biomedical research. *Nat. Mater.*, **2008**. 7(10): p. 758-760.
31. **Nonat, A.**, Complexes de Lanthanides(III) pour le Développement de Nouvelles Sondes Magnétiques et Luminescentes. *Thèse de l'Université Joseph Fourier, Grenoble 1* **2007**.
32. **Blasse, G. and C. Grabmaier**, Luminescent Materials **1994**, Berlin: Springer.
33. **Clarke, S.J., C.A. Hollmann, Z. Zhang, D. Suffern, S.E. Bradforth, N.M. Dimitrijevic, W.G. Minarik, and J.L. Nadeau**, Photophysics of dopamine-modified quantum dots and effects on biological systems. *Nat. Mater.*, **2006**. 5(5): p. 409-417.
34. **So, M.-K., C. Xu, A.M. Loening, S.S. Gambhir, and J. Rao**, Self-illuminating quantum dot conjugates for in vivo imaging. *Nat. Biotech.*, **2006**. 24(3): p. 339-343.
35. **Nitzsche, B., F. Ruhnnow, and S. Diez**, Quantum-dot-assisted characterization of microtubule rotations during cargo transport. *Nat. Nano.*, **2008**. 3(9): p. 552-556.
36. **Trindade, T., P. O'Brien, and N.L. Pickett**, Nanocrystalline Semiconductors: Synthesis, Properties, and Perspectives. *Chemistry of Materials*, **2001**. 13(11): p. 3843-3858.
37. **Reiss, P., M. Protière, and L. Li**, Core/Shell Semiconductor Nanocrystals. *Small*, **2009**. 5(2): p. 154-168.
38. **Balet, L.P., S.A. Ivanov, A. Piryatinski, M. Achermann, and V.I. Klimov**, Inverted Core/Shell Nanocrystals Continuously Tunable between Type-I and Type-II Localization Regimes. *Nano Letters*, **2004**. 4(8): p. 1485-1488.
39. **Li, L. and P. Reiss**, One-pot Synthesis of Highly Luminescent InP/ZnS Nanocrystals without Precursor Injection. *Journal of the American Chemical Society*, **2008**. 130(35): p. 11588-11589.
40. **Medintz, I.L., H.T. Uyeda, E.R. Goldman, and H. Mattoussi**, Quantum dot bioconjugates for imaging, labelling and sensing. *Nat. Mater.*, **2005**. 4(6): p. 435-446.
41. **Michalet, X., F.F. Pinaud, L.A. Bentolila, J.M. Tsay, S. Doose, J.J. Li, G. Sundaresan, A.M. Wu, S.S. Gambhir, and S. Weiss**, Quantum dots for live cells, in vivo imaging, and diagnostics. *Science*, **2005**. 307(5709): p. 538-544.
42. **Dubertret, B., P. Skourides, D.J. Norris, V. Noireaux, A.H. Brivanlou, and A. Libchaber**, In vivo imaging of quantum dots encapsulated in phospholipid micelles. *Science*, **2002**. 298(5599): p. 1759-1762.
43. **Luccardini, C., C. Tribet, F. Vial, V. Marchi-Artzner, and M. Dahan**, Size, charge, and interactions with giant lipid vesicles of quantum dots coated with an amphiphilic macromolecule. *Langmuir*, **2006**. 22(5): p. 2304-2310.

44. Gerion, D., F. Pinaud, S.C. Williams, W.J. Parak, D. Zanchet, S. Weiss, and A.P. Alivisatos, Synthesis and Properties of Biocompatible Water-Soluble Silica-Coated CdSe/ZnS Semiconductor Quantum Dots. *The Journal of Physical Chemistry B*, **2001**. 105(37): p. 8861-8871.
45. Chen, Y. and Z. Rosenzweig, Luminescent CdSe Quantum Dot Doped Stabilized Micelles. *Nano Letters*, **2002**. 2(11): p. 1299-1302.
46. Rogach, A.L., D. Nagesha, J.W. Ostrander, M. Giersig, and N.A. Kotov, "Raisin Bun"-Type Composite Spheres of Silica and Semiconductor Nanocrystals. *Chemistry of Materials*, **2000**. 12(9): p. 2676-2685.
47. Han, M.Y., X.H. Gao, J.Z. Su, and S. Nie, Quantum-dot-tagged microbeads for multiplexed optical coding of biomolecules. *Nature Biotechnology*, **2001**. 19(7): p. 631-635.
48. Nikolic, M.S., M. Krack, V. Aleksandrovic, A. Kornowski, S. Förster, and H. Weller, Tailor-Made Ligands for Biocompatible Nanoparticles. *Angewandte Chemie International Edition*, **2006**. 45(39): p. 6577-6580.
49. Bouziques, C., T. Gacoin, and A. Alexandrou, Biological Applications of Rare-Earth Based Nanoparticles. *ACS Nano*, **2011**. 5(11): p. 8488-8505.
50. Bühler, G. and C. Feldmann, Microwave-Assisted Synthesis of Luminescent LaPO₄:Ce,Tb Nanocrystals in Ionic Liquids. *Angewandte Chemie International Edition*, **2006**. 45(29): p. 4864-4867.
51. Jung, D.R., D. Son, J. Kim, C. Kim, and B. Park, Highly luminescent surface-passivated ZnS:Mn nanoparticles by a simple one-step synthesis. *Applied Physics Letters*, **2008**. 93(16).
52. Huignard, A., T. Gacoin, and J.P. Boilot, Synthesis and luminescence properties of colloidal YVO₄:Eu phosphors. *Chemistry of Materials*, **2000**. 12(4): p. 1090-1094.
53. Yin, S., S.G. Akita, M. Shinozaki, R.X. Li, and T. Sato, Synthesis and morphological control of rare earth oxide nanoparticles by solvothermal reaction. *Journal of Materials Science*, **2008**. 43(7): p. 2234-2239.
54. Riwotzki, K., H. Meyssamy, H. Schnablegger, A. Kornowski, and M. Haase, Liquid-Phase Synthesis of Colloids and Redispersible Powders of Strongly Luminescing LaPO₄:Ce,Tb Nanocrystals. *Angewandte Chemie International Edition*, **2001**. 40(3): p. 573-576.
55. Bol, A.A. and A. Meijerink, Long-lived Mn²⁺ emission in nanocrystalline ZnS:Mn²⁺. *Physical Review B*, **1998**. 58(24): p. R15997-R16000.
56. Wang, F., X. Xue, and X. Liu, Multicolor Tuning of (Ln, P)-Doped YVO₄ Nanoparticles by Single-Wavelength Excitation. *Angewandte Chemie International Edition*, **2008**. 47(5): p. 906-909.
57. Ow, H., D.R. Larson, M. Srivastava, B.A. Baird, W.W. Webb, and U. Wiesner, Bright and stable core-shell fluorescent silica nanoparticles. *Nano Letters*, **2005**. 5(1): p. 113-117.
58. Samuel, J., G. Tallec, P. Cherns, W.L. Ling, O. Raccurt, O. Poncelet, D. Imbert, and M. Mazzanti, Lanthanide-chelate silica nanospheres as robust multicolor Vis-NIR tags. *Chemical Communications*, **2010**. 46(15): p. 2647-2649.
59. Larson, D.R., H. Ow, H.D. Vishwasrao, A.A. Heikal, U. Wiesner, and W.W. Webb, Silica nanoparticle architecture determines radiative properties of encapsulated fluorophores. *Chemistry of Materials*, **2008**. 20(8): p. 2677-2684.
60. Bae, S.W., W.H. Tan, and J.I. Hong, Fluorescent dye-doped silica nanoparticles: new tools for bioapplications. *Chemical Communications*, **2012**. 48(17): p. 2270-2282.
61. Bonacchi, S., D. Genovese, R. Juris, M. Montalti, L. Prodi, E. Rampazzo, M. Sgarzi, and N. Zaccheroni, Luminescent Chemosensors Based on Silica Nanoparticles, in *Luminescence Applied in Sensor Science*, **2011**. p. 93-138.
62. Wang, L., K.M. Wang, S. Santra, X.J. Zhao, L.R. Hilliard, J.E. Smith, J.R. Wu, and W.H. Tan, Watching silica nanoparticles glow in the biological world. *Analytical Chemistry*, **2006**. 78(3): p. 646-654.

63. **Tronc, F., M. Li, J.P. Lu, M.A. Winnik, B.L. Kaul, and J.C. Graciet**, Fluorescent polymer particles by emulsion and miniemulsion polymerization. *Journal of Polymer Science Part A-Polymer Chemistry*, **2003**. 41(6): p. 766-778.
64. **Vancaeyzeele, C., O. Ornatsky, V. Baranov, L. Shen, A. Abdelrahman, and M.A. Winnik**, Lanthanide-containing polymer nanoparticles for biological tagging applications: Nonspecific endocytosis and cell adhesion. *Journal of the American Chemical Society*, **2007**. 129: p. 13653-13660.
65. **Baier, M.C., J. Huber, and S. Mecking**, Fluorescent Conjugated Polymer Nanoparticles by Polymerization in Miniemulsion. *Journal of the American Chemical Society*, **2009**. 131(40): p. 14267-14273.
66. **Haugland, R.**, Web Edition. *Invitrogen*.
67. **Binnemans, K.**, Lanthanide-Based Luminescent Hybrid Materials. *Chemical Reviews*, **2009**. 109(9): p. 4283-4374.
68. **Bunzli, J.C.G. and C. Piguet**, Taking advantage of luminescent lanthanide ions. *Chemical Society Reviews*, **2005**. 34(12): p. 1048-1077.
69. **Samuel, J.**, Synthèse et dispersion de nanoparticules luminescentes dédiées à la lutte anti-contrefaçon *Thèse de l'Université Claude Bernard, Lyon 1*, **2009**.
70. **Robert, W., R.C. Andrew, and G.S. David**, Encoded Microcarriers For High-Throughput Multiplexed Detection. *Angewandte Chemie International Edition*, **2006**. 45(37): p. 6104-6117.
71. **Kerbellec, N., D. Kustaryono, V. Haquin, M. Etienne, C. Daiguebonne, and O. Guillou**, An Unprecedented Family of Lanthanide-Containing Coordination Polymers with Highly Tunable Emission Properties. *Inorganic Chemistry*, **2009**. 48(7): p. 2837-2843.
72. **Yalow, R.S. and S.A. Berson**, Assay of Plasma Insulin in Human Subjects by Immunological Methods. *Nature*, **1959**. 184(4699): p. 1648-1649.
73. **Burns, A., H. Ow, and U. Wiesner**, Fluorescent core-shell silica nanoparticles: towards "Lab on a Particle" architectures for nanobiotechnology. *Chemical Society Reviews*, **2006**. 35: p. 1028-1042.
74. **Piao, Y., A. Burns, J. Kim, U. Wiesner, and T. Hyeon**, Designed Fabrication of Silica-Based Nanostructured Particle Systems for Nanomedicine Applications. *Advanced Functional Materials*, **2008**. 18(23): p. 3745-3758.
75. **Gao, X., Y. Cui, R.M. Levenson, L.W.K. Chung, and S. Nie**, In vivo cancer targeting and imaging with semiconductor quantum dots. *Nat. Biotech.*, **2004**. 22(8): p. 969-976.
76. **Gill, R., M. Zayats, and I. Willner**, Semiconductor Quantum Dots for Bioanalysis. *Angewandte Chemie International Edition*, **2008**. 47(40): p. 7602-7625.
77. **Bonacchi, S., D. Genovese, R. Juris, M. Montalti, L. Prodi, E. Rampazzo, and N. Zaccheroni**, Luminescent Silica Nanoparticles: Extending the Frontiers of Brightness. *Angewandte Chemie-International Edition*, **2011**. 50(18): p. 4056-4066.
78. **He, X., H. Nie, K. Wang, W. Tan, X. Wu, and P. Zhang**, In Vivo Study of Biodistribution and Urinary Excretion of Surface-Modified Silica Nanoparticles. *Analytical Chemistry*, **2008**. 80(24): p. 9597-9603.
79. **Barratt, G.**, Colloidal drug carriers: achievements and perspectives. *Cellular and Molecular Life Sciences*, **2003**. 60(1): p. 21-37.
80. **Jagielski, N., S. Sharma, V. Hombach, V. Mailänder, V. Rasche, and K. Landfester**, Nanocapsules Synthesized by Miniemulsion Technique for Application as New Contrast Agent Materials. *Macromolecular Chemistry and Physics*, **2007**. 208(19-20): p. 2229-2241.
81. **Koole, R., M.M. van Schooneveld, J. Hilhorst, K. Castermans, D.P. Cormode, G.J. Strijkers, C.d.M. Donega, D. Vanmaekelbergh, A.W. Griffioen, K. Nicolay, Z.A. Fayad, A. Meijerink, and W.J.M. Mulder**, Paramagnetic Lipid-Coated Silica Nanoparticles with a Fluorescent Quantum Dot Core: A New Contrast Agent Platform for Multimodality Imaging. *Bioconjugate Chemistry*, **2008**. 19(12): p. 2471-2479.

82. **Taylor, K.M.L., J.S. Kim, W.J. Rieter, H. An, W.L. Lin, and W.B. Lin**, Mesoporous silica nanospheres as highly efficient MRI contrast agents. *Journal of the American Chemical Society*, **2008**. 130(7): p. 2154.
83. **Rampazzo, E., F. Boschi, S. Bonacchi, R. Juris, M. Montalti, N. Zaccheroni, L. Prodi, L. Calderan, B. Rossi, S. Becchi, and A. Sbarbati**, Multicolor core/shell silica nanoparticles for in vivo and ex vivo imaging. *Nanoscale*, **2012**. 4(3): p. 824-830.
84. **Geissler, D., L.J. Charbonniere, R.F. Ziessel, N.G. Butlin, H.-G. Loehmannsroeben, and N. Hildebrandt**, Quantum Dot Biosensors for Ultrasensitive Multiplexed Diagnostics. *Angewandte Chemie-International Edition*, **2010**. 49(8): p. 1396-1401.
85. **Herz, E., A. Burns, D. Bonner, and U. Wiesner**, Large Stokes-Shift Fluorescent Silica Nanoparticles with Enhanced Emission Over Free Dye for Single Excitation Multiplexing. *Macromolecular Rapid Communications*, **2009**. 30(22): p. 1907-1910.
86. **Abdelrahman, A.I., S. Dai, S.C. Thickett, O. Ornatsky, D. Bandura, V. Baranov, and M.A. Winnik**, Lanthanide-Containing Polymer Microspheres by Multiple-Stage Dispersion Polymerization for Highly Multiplexed Bioassays. *Journal of the American Chemical Society*, **2009**. 131(42): p. 15276-15283.
87. **Bunzli, J.-C.G.**, Lanthanide Luminescence for Biomedical Analyses and Imaging. *Chemical Reviews*, **2010**. 110(5): p. 2729-2755.
88. **Kuriki, K., Y. Koike, and Y. Okamoto**, Plastic optical fiber lasers and amplifiers containing lanthanide complexes. *Chemical Reviews*, **2002**. 102(6): p. 2347-2356.
89. **Pinho, S.L.C., H. Faneca, C. Geraldés, M.H. Delville, L.D. Carlos, and J. Rocha**, Lanthanide-DTPA grafted silica nanoparticles as bimodal-imaging contrast agents. *Biomaterials*, **2012**. 33(3): p. 925-935.
90. **Pinho, S.L.C., H. Faneca, C. Geraldés, J. Rocha, L.D. Carlos, and M.H. Delville**, Silica Nanoparticles for Bimodal MRI-Optical Imaging by Grafting Gd³⁺ and Eu³⁺/Tb³⁺ Complexes. *European Journal of Inorganic Chemistry*, **2012**(16): p. 2828-2837.
91. **Sharma, P., S. Brown, G. Walter, S. Santra, and B. Moudgil**, Nanoparticles for bioimaging. *Advances in Colloid and Interface Science*, **2006**. 123: p. 471-485.
92. **Landfester, K.**, Encapsulated magnetite particles for biomedical application. **2003**. 15: p. 1345.
93. **Brambilla, D., J. Nicolas, B. Le Droumaguet, K. Andrieux, V. Marsaud, P.O. Couraud, and P. Couvreur**, Design of fluorescently tagged poly(alkyl cyanoacrylate) nanoparticles for human brain endothelial cell imaging. *Chemical Communications*, **2010**. 46(15): p. 2602-2604.
94. **Kim, S., C.-K. Lim, J. Na, Y.-D. Lee, K. Kim, K. Choi, J.F. Leary, and I.C. Kwon**, Conjugated polymer nanoparticles for biomedical in vivo imaging. *Chemical Communications*, **2010**. 46(10): p. 1617-1619.

Chapitre 2 : Nanoparticules hybrides à base de silice : la voie sol-gel

Table des matières

1	Synthèse de nanoparticules de silice par le procédé sol-gel	47
1.1	Le procédé sol-gel.....	47
1.2	Synthèse de nanoparticules de silice.....	48
1.3	Procédé sol-gel en milieu confiné : La Microémulsion Inverse.....	49
2	Synthèse de nanoparticules de silice luminescentes	55
2.1	Elaboration de particules luminescentes par voie Stöber	55
2.2	Elaboration de particules luminescentes par voie micellaire inverse	57
2.2.1	Incorporation par voie chimique : greffage covalent	57
2.2.2	Incorporation par voie physico-chimique : sans greffage covalent.....	60
3	Incorporation d'organolanthanides dans des nanoparticules de silice par voie micellaire inverse sans liaison covalente	63
3.1	Présentation des organolanthanides utilisés	63
3.2	Protocoles de synthèse des nanoparticules.....	66
3.2.1	Système quaternaire.....	66
3.2.2	Système ternaire.....	68
3.3	Caractérisations préliminaires des nanoparticules dopées	69
3.3.1	Cas du système quaternaire	69
3.3.2	Cas du système ternaire	74
3.4	Conclusion.....	76
4	Quantification du processus d'incorporation	77
4.1	Quantification par ICPMS.....	77
4.2	Quantification par traçage radioactif	80
4.2.1	Essai préliminaires : présentation du protocole.....	80
4.2.2	Cas du système quaternaire	82
4.2.3	Cas de la microémulsion ternaire	87
4.3	Comparaison des deux méthodes de quantification.....	92
4.4	Conclusion.....	93
5	Fonctionnalisation de la surface des particules de silice.....	95
6	Influence des conditions de synthèse en microémulsion.....	101
7	Conclusion	116
	Bibliographie du chapitre 2	117

Chapitre 2 : Nanoparticules hybrides à base de silice : la voie sol-gel

L'intérêt et les applications liées aux nanoparticules de silice luminescentes ont été exposés dans le premier chapitre. Elles permettent d'obtenir un signal de luminescence élevé grâce à la possibilité d'y incorporer une grande quantité de molécules. L'encapsulation de molécules luminescentes dans des particules inorganiques augmente également la photostabilité de ces molécules vis-à-vis du milieu environnant du fait du rôle protecteur de la matrice de silice. De plus, la chimie du silicium permet d'effectuer des modifications de surface avec différents groupements chimiques en fonction des besoins spécifiques de l'application. Ces nanoparticules hybrides aux propriétés nouvelles sont utilisées dans des dispositifs optiques, par exemple en bio-imagerie, où il existe une demande importante en matériaux luminescents ultrasensibles, biocompatibles et photostables.

Dans ce chapitre nous détaillerons les travaux effectués sur l'incorporation non covalente de deux complexes de lanthanide dans des nanoparticules de silice. Le but de cette partie est de développer des nouveaux traceurs luminescents pouvant être utilisés dans le domaine de l'imagerie biomédicale. Un certain nombre de paramètres inhérents aux applications biologiques devront donc être maîtrisés. Les nanoparticules de silice devront ainsi être de petites tailles et monodisperses afin d'éviter les risques d'embolie. L'encapsulation des organolanthanides devra de plus être stable, sans risque de « fuites » dans le milieu environnant, au risque de perdre la luminescence et pour des questions de toxicité. Ce point est particulièrement important dans notre cas où l'incorporation est non covalente. Cette méthode permet de s'affranchir d'une étape de modification chimique qui peut être complexe, mais surtout préjudiciable aux propriétés photochimiques de la molécule incorporée. En revanche elle est beaucoup plus sujette au phénomène de relargage, et le taux de dopage est généralement plus faible. Ainsi malgré des avantages indéniables ces limitations freinent son développement. Afin de mieux comprendre les paramètres influençant la stabilité et l'efficacité d'une incorporation non covalente, deux organolanthanides solubles et stables dans l'eau mais présentant des propriétés physicochimiques différentes ont été étudiés. Cette étude a donc nécessité le développement de méthodes de quantification fiables permettant de caractériser le comportement de ces deux complexes de lanthanide lors de leur incorporation.

Dans un premier temps un rappel bibliographique sur les nanoparticules de silice dopées par des molécules luminescentes est présenté et le choix du procédé sol-gel par microémulsion inverse détaillé. Dans un deuxième temps les protocoles de microémulsion étudiés dans ce chapitre sont introduits. Deux systèmes différents ont été utilisés afin de viser deux gammes de tailles. La suite du chapitre est consacrée à la caractérisation des processus d'incorporation mettant en jeu les deux organolanthanides choisis. Dans cette optique, une méthode de quantification originale a été développée et utilisée pour déterminer l'influence de la nature des complexes de lanthanide sur l'efficacité et la stabilité du dopage. Pour finir, l'influence de certains paramètres affectant la taille ou la morphologie de la silice sur le comportement des organolanthanides est brièvement étudié.

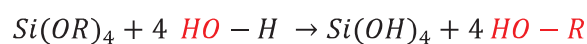
1 Synthèse de nanoparticules de silice par le procédé sol-gel

1.1 Le procédé sol-gel

De nombreuses études traitent de la synthèse en phase liquide de nanoparticules de silice sphériques de diamètre compris entre 10 nm et quelques microns. La plupart de ces travaux sont basés sur le procédé sol-gel décrit par le Français Ebelmen en 1845 qui permet de préparer des « polymères d'oxyde » tels que la silice [1]. La réaction sol-gel repose sur une succession de réactions d'hydrolyse-condensation de précurseurs, principalement des alcoxydes $M(OR)_n$, dans lesquels l'atome métallique M est lié à des groupements alcoxy OR où R est un groupement alkyle. Dans le cas de la silice, les réactions d'hydrolyse-condensation mettent en jeu des précurseurs d'alcoxysilanes de formule générale $Si(OR)_4$ qui entraînent la formation d'espèces de plus en plus condensées et conduisent à des particules de silice colloïdales. Elles sont susceptibles de former des sols puis des gels d'où le nom de procédé « sol-gel ».

L'hydrolyse

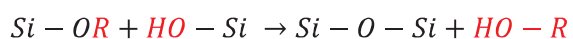
Le processus de formation des nanoparticules de silice par voie sol-gel est amorcé par l'hydrolyse du précurseur alcoxysilane par addition d'eau ou d'un mélange eau/alcool. Elle conduit à la formation de groupements silanols, Si-OH, selon la réaction suivante :



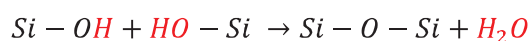
Le mécanisme réactionnel est une substitution nucléophile qui peut être accélérée par l'ajout d'un catalyseur acide ou basique.

La condensation

Les groupements hydroxyle résultant de la réaction d'hydrolyse, réagissent pour former par condensation des ponts Si-O-Si. Ce processus commence souvent avant que l'hydrolyse ne soit complètement achevée. Ainsi deux réactions peuvent être en concurrence selon le degré d'hydrolyse des précurseurs alcoxysilane. Dans la première, appelée alcoxylation, la réaction se produit entre un groupement alcoxy et un groupement silanol pour libérer une molécule de l'alcool parent :



Dans la deuxième, appelée oxolation, la réaction se produit entre deux groupements silanols et le groupe partant est cette fois-ci une molécule d'eau :



Comme pour l'hydrolyse, le mécanisme réactionnel de la condensation est une substitution nucléophile qui peut être accélérée par l'ajout d'un catalyseur acide ou basique.

Ces réactions donnent naissance à un « sol » colloïdal c'est à dire une dispersion de matière solide dans un solvant liquide. Ces particules dispersées en croissance s'agrègent progressivement et

occupent ainsi un volume toujours plus important. La viscosité augmente pendant cette étape et le liquide finit pas se figer : c'est la gélification. Solide et transparent le gel obtenu est constitué d'un réseau polymérique poreux de silice emprisonnant le solvant. Après la gélification les réactions chimiques se poursuivent et densifie le gel en modifiant la distribution en taille des pores. L'obtention d'un matériau à partir du gel est ensuite effectuée en éliminant le solvant par séchage. Les matériaux obtenus sont alors très poreux. Une étape de séchage à très haute température permet l'élimination des pores et la fusion du gel en verre de silice. Dans certains cas il peut être intéressant de stopper la réaction avant la gélification. C'est notamment le cas pour les particules de silice où la réaction est stoppée au moment de l'obtention d'un « sol ».

1.2 Synthèse de nanoparticules de silice

Stöber *et al* [2] ont été les premiers à utiliser le procédé sol-gel pour l'élaboration de nanoparticules de silice. Ils ont montré qu'en présence d'eau et d'ammoniaque, l'hydrolyse puis la condensation du tétraéthoxysilane (TEOS) mis en solution dans l'éthanol conduit à la formation de particules de silice.

Deux modèles ont été proposés pour décrire le processus de formation des nanoparticules. Ils sont tous les deux basés sur les phénomènes de nucléation et de croissance de germes de silice.

Le premier décrit par Matsoukas et Gulari [3] est similaire au mécanisme de La Mer décrit au chapitre 1 [4]. Une étape de nucléation induite par une sursaturation de monomères de TEOS hydrolysés ($\text{Si}(\text{OH})_4$) est suivie d'une période de croissance qui s'effectue par adjonction de monomères de TEOS hydrolysés à la surface des germes de silice.

Le second modèle proposé par Bogush et Zukoski [5] s'appuie sur la théorie de Flory-Stockmayer qui propose que la « nucléation » se produit quand une chaîne en croissance devient insoluble et précipite. Dans ce modèle, la « nucléation » se produit en permanence et la croissance des billes de silice est le résultat de l'agrégation des chaînes entre elles et/ou avec de plus gros agrégats.

D'autres comme van Blaaderen [6, 7], Harris *et al.* [8, 9] ou encore Giesche [10] pensent que les deux mécanismes sont responsables de la croissance : le phénomène d'agrégation est le premier à se mettre en place mais il est suivi par l'adjonction de monomères de TEOS hydrolysés à la surface des agrégats.

Les différentes investigations menées sur la formation des billes de silice par la méthode Stöber s'accordent toutefois sur le fait que le diamètre des particules de silice dépend des paramètres suivants : les concentrations en TEOS, eau et ammoniaque, la température, la nature de l'alcool ainsi que la force ionique de l'eau. En revanche le premier modèle stipule que la distribution en taille est d'autant plus étroite que la période de nucléation est courte devant l'étape de croissance, tandis que le second modèle préconise plutôt un contrôle de l'agrégation pour limiter la polydispersité. Cependant, malgré le nombre d'études effectuées et les prévisions en général empiriques [11] qui ont été établies, il est difficile de prédire la taille finale et la distribution en taille des particules obtenues par cette méthode. La difficulté repose principalement sur le fait qu'il est délicat de contrôler le processus de nucléation des germes d'autant que dans la plupart des cas, les réactifs

sont mélangés d'un seul coup. Plusieurs variantes ont alors été proposées comme l'ajout progressif de TEOS [12], ou l'utilisation d'acides aminés comme cela a été récemment décrit par Yokoi et al. [13]. Cette dernière méthode permet de synthétiser des particules monodisperses d'une dizaine de nanomètre en utilisant la lysine ou l'arginine comme catalyseur pour les réactions d'hydrolyse/condensation du TEOS [13-15]. L'utilisation de milieux organisés comme les microémulsions a également été proposée afin de mieux contrôler la synthèse des nanoparticules de silice.

1.3 Procédé sol-gel en milieu confiné : La Microémulsion Inverse

Les émulsions ainsi que les microémulsions sont des dispersions de type « liquide-liquide ». Les systèmes huile dans eau ou eau dans huile peuvent être distingués en fonction de la nature des phases dispersées/dispersantes. Les émulsions sont caractérisées par une phase dispersée de taille généralement comprise entre 200 et 10000 nm et d'une phase dispersante non miscible. L'interface importante générée par ces deux liquides non miscibles rend ces systèmes instables thermodynamiquement. Ils tendent donc à revenir à un état plus stable où les deux phases non miscibles démixent. L'ajout de tensioactif permet de stabiliser ces systèmes. Ces molécules amphiphiles, sont localisées à l'interface eau/huile et permettent d'abaisser la tension interfaciale développée par les deux liquides non miscibles et d'empêcher leur démixtion. La microémulsion est un type d'émulsion qui a la particularité d'être stable thermodynamiquement. Dans un tel système si la formulation est adéquate, une tension interfaciale très faible peut être atteinte ce qui permet la coexistence des phases eau et huile à l'échelle quasi moléculaire grâce au tensioactif. Une simple agitation magnétique est ainsi suffisante pour former une microémulsion, qui est généralement transparente et de faible viscosité. La microémulsion présente des microdomaines, pas nécessairement sphériques, de petites tailles, typiquement entre 10 et 100 nm, fluctuant rapidement dans le temps et dans l'espace. Plusieurs structures micellaires peuvent être observées en faisant varier les quantités d'huile, d'eau ou/et de tensioactif. Le diagramme de phase reporté à la Figure 19 présente les différentes structures accessibles en fonction du rapport des constituants d'un système ternaire eau/huile/tensioactif.

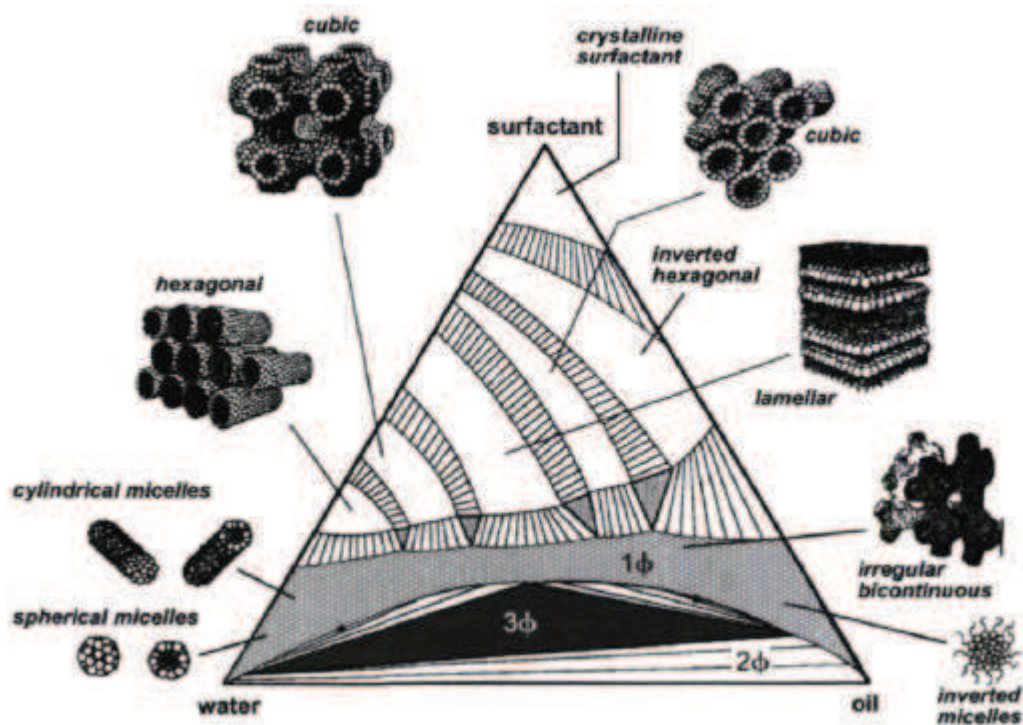


Figure 19 Diagramme de phase d'un système ternaire eau/tensioactif/huile [16]

Le phénomène de microémulsion a été découvert dans les années 40 par hasard par deux chercheurs Américains: Hoar et Schulman [17]. Il est resté pendant longtemps une curiosité de laboratoire jusque dans les années 70, où la crise pétrolière pousse les industriels à s'intéresser à une propriété remarquable des microémulsions : une tension superficielle extrêmement faible. Elle a été mise à profit notamment dans la récupération améliorée du pétrole dans les roches. A partir de ce moment-là, un grand nombre d'études ont été menées pour tenter de comprendre ce phénomène d'un point de vue fondamental, ainsi que pour trouver d'autres applications. Ainsi le pouvoir des microémulsions à solubiliser des composés hydrophiles et lipophiles est utilisé pour la décontamination des sols, pour la fabrication de parfums sans alcool ou encore dans l'industrie textile [18]. Enfin la présence de microdomaines aqueux ou huileux est mise à profit pour conduire des réactions enzymatiques en milieu confiné ainsi que pour la synthèse de nanoparticules [19, 20]. En effet les micelles formées en microémulsion peuvent être utilisées comme milieu de synthèse dont la géométrie est fixée par le rapport entre les différents constituants du milieu. Les micelles inverses (Figure 20) ont été particulièrement utilisées pour la synthèse de nanoparticules de taille contrôlée.

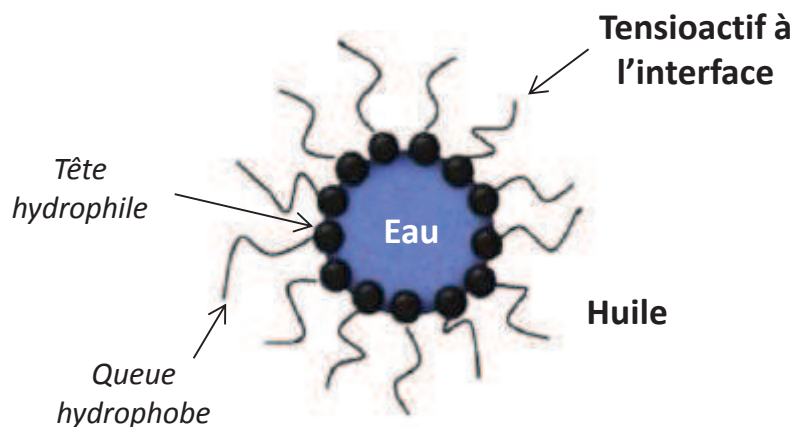


Figure 20 Représentation schématique d'une micelle inverse

Les synthèses de nanoparticules en voie micellaire inverse peuvent être divisées en deux catégories. Dans le premier cas, deux microémulsions contenant chacune un des réactifs de la synthèse sont formées séparément puis mélangées (Figure 21). La réaction s'amorce dans les micelles grâce aux échanges de matière qui interviennent lors des collisions multiples entre les micelles inverses, créées par le mouvement brownien.

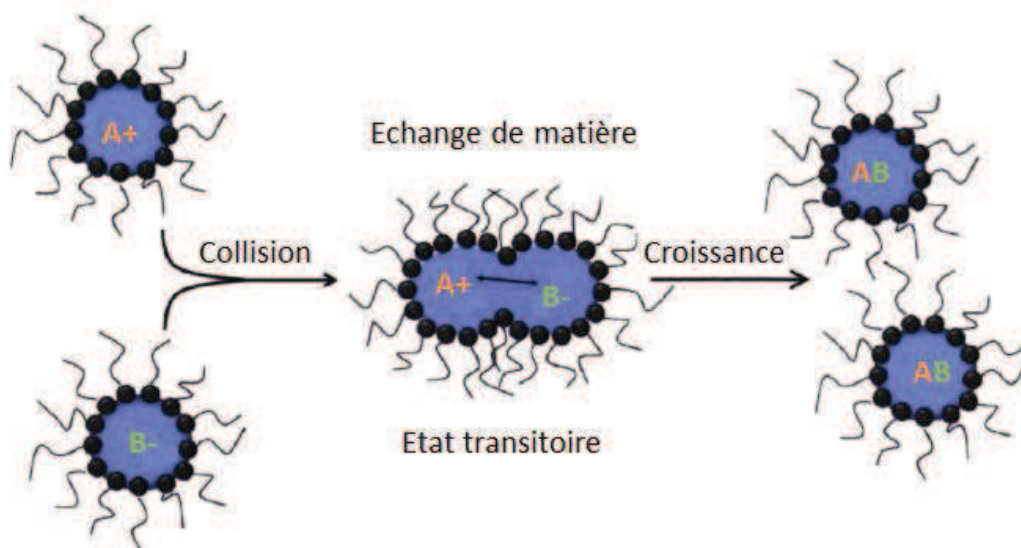


Figure 21 Schéma de principe de la synthèse de nanoparticules à partir d'un système à deux microémulsions

Dans le deuxième cas une seule microémulsion est formée et le réactif est introduit dans la phase continue (Figure 22). Après diffusion vers les micelles, il réagit ensuite de la même manière avec le contenu des micelles inverses. C'est cette méthode de synthèse par micelles inverses qui sera exclusivement étudiée dans ce chapitre.

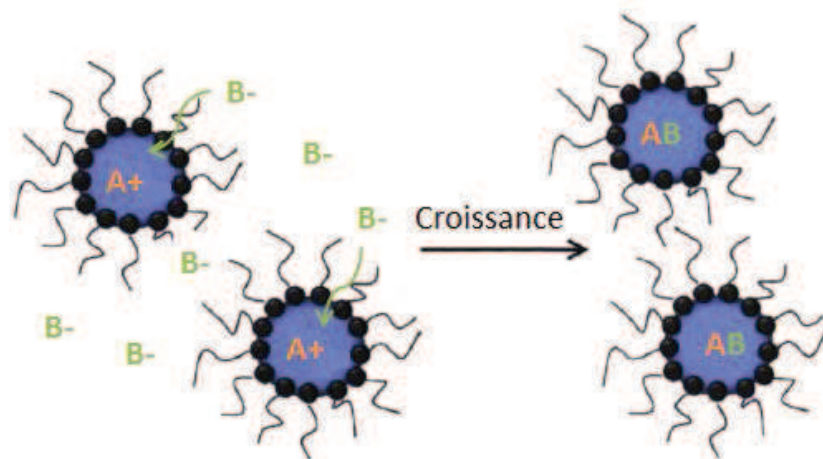


Figure 22 Schéma de principe de la synthèse de nanoparticules à partir d'un système à une microémulsion

La morphologie finale des objets est ainsi directement liée aux propriétés des micelles inverses qui peuvent être ajustées. C'est pourquoi depuis les années 80, un grand nombre des nanomatériaux de natures différentes ont été synthétisés en microémulsion [4, 21-25], dont la silice. Dans ce cas la phase aqueuse sous forme de gouttelettes nanométriques sert aussi de réactif.

La synthèse de nanoparticules de silice par voie sol-gel en microémulsion a été reportée pour la première fois dans les années 90 par Arriagada et Osseo-asare [26-30]. Les auteurs ont décrit la réaction d'hydrolyse-condensation du TEOS dans un système micellaire inverse ternaire composé d'un mélange Eau/Cyclohexane/Igepal CO-520 en présence d'ammoniaque. Les micelles inverses formées sont des gouttelettes d'eau de taille nanométrique entourées d'une monocouche de tensioactif. Ce film de tensioactif se comporte comme un écran qui isole les nanogouttelettes d'eau les unes des autres et empêche ainsi leur coalescence. Ainsi les nanogouttelettes sont bien distinctes et leur dimension varie principalement selon la quantité d'eau solubilisée qui peut être contrôlée par le rapport molaire entre l'eau et le tensioactif (noté R). Les gouttelettes ne sont cependant pas strictement confinées puisqu'elles sont également soumises au mouvement brownien. Cette diffusion brownienne conduit à des collisions au cours desquelles les gouttelettes peuvent s'interpénétrer pour former des structures transitoires d'une durée de vie de l'ordre de la microseconde, ce qui permet un échange de contenu sans passer par la phase continue d'huile [31]. Toutefois lorsque les particules atteignent une certaine taille, l'échange de contenu est entravé parce qu'il nécessiterait un grand changement dans la courbure du film de tensioactif entourant les micelles inverses, ce qui n'est pas favorable énergétiquement. Les molécules tensioactives s'adsorbent à la surface des particules, les stabilisent donc et les protègent contre une nouvelle croissance [32]. Par conséquent, les nanoparticules obtenues dans un tel milieu sont généralement bien distinctes et caractérisées par une faible distribution en taille.

La formation des billes de silice repose sur la diffusion de l'alcoxyde de silicium de la phase huileuse vers les nanogouttelettes d'eau stabilisées par le tensioactif. Les molécules de TEOS hydrophobes viennent d'abord s'hydrolyser à l'interface eau/huile des micelles inverses. A mesure que les molécules de TEOS s'hydrolysent, elles deviennent plus hydrophiles et pénètrent dans la phase aqueuse dans laquelle les réactions de condensation peuvent avoir lieu (alcoxolation ou oxolation suivant leur degré d'hydrolyse). Ces deux réactions sont confinées à l'intérieur des micelles, c'est pourquoi les gouttes d'eau dispersées dans la phase huileuse sont apparentées à des nano-réacteurs.

Comme pour le procédé Stöber, la croissance des particules est ensuite régie par deux mécanismes : d'une part, par addition de monomère (i.e. molécules de TEOS partiellement ou totalement hydrolysées) sur des particules existantes, et d'autre part par agrégation notamment lors des contacts intermicellaires. L'étape initiale induite par les collisions inter-gouttelettes est donc déterminante sur la taille finale des particules puisqu'elle fixe le nombre de germes formés initialement. Les propriétés des micelles et leur dynamique d'échange ont donc un rôle crucial. La nature du tensioactif a une influence directe sur ce phénomène : un film de tensioactif difficilement déformable ou fortement lié aux gouttelettes d'eau limitera fortement la création de canaux inter-gouttelettes. La vitesse d'hydrolyse de l'alcoxyde de silicium a également une grande influence sur le nombre de nucléis formés initialement. L'accès aux gouttelettes d'eau par l'alcoxyde de silicium (directement liée aux propriétés des micelles inverses), le pH, la concentration en réactifs et en catalyseur et la nature de l'alcoxyde sont autant de paramètres influençant les vitesses de réaction.

Un grand nombre de paramètres influencent donc la taille et la morphologie des particules finales. Un petit aperçu non-exhaustif des effets observés en faisant varier certains de ces paramètres est dressé ci-dessous [33]. Ces effets seront par ailleurs étudiés plus en détails dans la partie 5 de ce chapitre.

- L'un des paramètres les plus importants est le rapport molaire $R = [\text{eau}/\text{tensioactif}]$. L'eau doit être en excès par rapport au tensioactif pour permettre une hydrolyse totale de l'alcoxyde. Pour des faibles valeurs de R , l'eau est essentiellement liée au tensioactif [34]. Ce sont les collisions entre micelles et l'échange de matière qui permettent la condensation et donc la nucléation, or elles sont plus nombreuses quand le rapport R augmente [28]. Cette augmentation conduit à une diminution de la taille des particules. En revanche si le taux d'échange inter-micellaire continue d'augmenter, les particules s'agglomèrent. Dans le cas de l'Igepal CO-520 par exemple, la taille des particules est minimale pour R compris entre 0,4 et 6,7.
- Selon la nature du précurseur de silice, la vitesse d'hydrolyse varie : le TMOS (tétraméthylorthosilicate) s'hydrolyse plus rapidement que le TEOS [34]. Une forte concentration en TEOS induit une faible taille de particule. En effet la nucléation débute quand la quantité d'espèces hydrolysées dépasse le seuil de nucléation dans chaque goutte. Or plus il y a de noyaux formés et plus la taille des particules finales sera faible [28].
- La nature du tensioactif a une influence sur la taille et la forme des micelles (sphériques ou lamellaires par exemple). En effet une structure lamellaire favorise les échanges micellaires, ce qui conduit à une nucléation plus rapide, et donc à des particules de plus petite taille [35].
- La concentration en ammoniacale (catalyseur) influence la taille des particules de manière complexe. En effet son effet est variable en fonction du rapport R . La quantité en

ammoniaque peut ainsi entraîner une augmentation ou une diminution de la taille selon des mécanismes qui ne sont pas toujours bien compris [28]. De plus il a été montré que pour un rapport R fixé, la forme des particules devenait irrégulière à faible concentration en ammoniaque [28].

- Le choix d'un catalyseur acide (HCl) ou basique (NH₄OH) a également une influence. Finnie et al. [34] ont montré que l'hydrolyse du TMOS était bien plus rapide à pH acide (entièrement hydrolysé après 30 minutes) qu'à pH basique (70% hydrolysé). Ils ont de plus montré que, pour ce même précurseur de silice, les particules formées par catalyse acide étaient moins denses, plus petites et moins homogènes qu'en milieu basique.

La température, la vitesse d'agitation et le temps de réaction sont également des paramètres qui affectent la taille et la morphologie des particules. La synthèse en microémulsion est donc sujette à de nombreuses variables interdépendantes dont les effets sont difficilement prédictibles. Les études et les observations sont menées à partir de cas empiriques et il n'y a donc pas de règles absolues pour interpréter complètement les mécanismes mis en jeu pendant la synthèse. Malgré cela, cette méthode est très utilisée car elle est facile à mettre en œuvre et offre une grande liberté dans le choix des tailles de particule. L'ensemble des études menées sur le sujet cherche à pouvoir synthétiser des particules sur mesure à l'échelle nanométrique. L'homogénéité, les tailles de particule atteintes ou encore le contrôle de leur structure représentent en effet un intérêt considérable dans de nombreux domaines.

Dans la littérature, on distingue donc principalement deux voies pour la synthèse de nanoparticules de silice : le procédé Stöber [2, 36, 37] et la méthode par voie micellaire inverse en microémulsion [38]. Pour rappel, le procédé Stöber consiste à faire croître des particules à partir de germes de silice par réaction sol-gel dans un milieu comprenant de l'eau, un alcool, un précurseur de silice et une base. La taille des particules n'est pas contrôlée par l'ajout de tensioactifs contrairement au procédé microémulsion mais par le rapport entre les différents constituants précités. Cette méthode, très utilisée pour synthétiser des nanoparticules de silice homogènes en taille, montre cependant quelques limitations quand elle est utilisée pour faire de l'encapsulation [39]. Le procédé microémulsion, quant à lui permet d'obtenir des particules plus petites (10-100 nm), monodisperses avec un meilleur contrôle de la taille. Cette méthode offre plus de liberté sur la gamme de tailles visée pour les applications recherchées (notamment en biologie où le contrôle de la taille est primordial pour éviter les risques d'embolies). De plus, le fait que la croissance de la silice soit confinée dans des « nano-réacteurs » aqueux est un gros avantage pour l'encapsulation de molécules hydrosolubles. La partie suivante détaille les principales différences entre ces deux méthodes pour l'incorporation de molécules luminescentes à travers des exemples de la littérature. L'objectif de cette thèse étant de travailler avec des organolanthanides, seuls les systèmes traitant de l'incorporation de molécules seront abordés. Cependant la silice est aussi utilisée pour encapsuler des particules de différentes natures comme des nanocristaux par les mêmes procédés de synthèse [40-44].

2 Synthèse de nanoparticules de silice luminescentes

La microémulsion inverse et le procédé Stöber ont été tous les deux utilisés pour synthétiser des nanoparticules de silice luminescentes. Dans les deux cas, la silice sert de support pour l'introduction de molécules luminescentes. Ces molécules peuvent être soit greffées en surface des particules [45, 46], soit incorporées de manière covalente [47, 48] ou non [49], à l'intérieur de la matrice de silice. Cette partie décrit les principales différences entre les deux méthodes.

2.1 Elaboration de particules luminescentes par voie Stöber

D'une manière générale deux types d'incorporation peuvent être distingués :

Le premier procédé consiste à modifier chimiquement le colorant afin de permettre une liaison covalente entre les molécules fluorescentes et la matrice de silice. Cette méthode permet d'obtenir un bon taux d'incorporation et une stabilité accrue vis-à-vis du phénomène de relargage de la molécule à l'extérieur de la particule. C'est le procédé le plus utilisé pour la production de nanoparticules de silice luminescentes par voie Stöber. En effet la formation des billes de silice s'effectuant en milieu homogène, les molécules doivent être rendues réactives vis à vis de la silice pour s'assurer de leur incorporation. La méthode la plus courante pour fonctionnaliser les molécules luminescentes est d'utiliser un agent de couplage, typiquement le 3-aminopropyltriéthoxysilane (APTES). L'agent de couplage, en réagissant avec la molécule luminescente par sa fonction amine, permet d'y introduire une fonction silane, créant ainsi un alkoxyde de silicium luminescent. La molécule doit évidemment posséder un groupement pouvant réagir avec l'amine, comme par exemple la fonction isothiocyanate (isothiocyanate de fluorescéine [47] ou de rhodamine [48] par exemple). Van Blaaderen et Vrij [46] ont été les premiers à décrire ce procédé de greffage covalent (Figure 23). Depuis, de nombreuses études ont suivi et beaucoup d'autres types de molécules luminescentes ont été incorporés [47, 48, 50-56], notamment des organolanthanides [57, 58]. Deux études très récentes ont ainsi décrit le greffage d'acide diéthylène triamine penta acétique (DTPA) à la surface de nanoparticules préalablement fonctionnalisées par l'APTES. Le DTPA a ensuite été utilisé pour complexer des atomes de Tb(III), Eu(III) et Gd(III) afin d'obtenir une sonde bi-modale [57, 58]. Des méthodes de greffage alternatives (modification chimique de la molécule sans utilisation de l'APTES) ont également été développées [45, 59, 60]. Une revue récente en dresse un bon aperçu [61]. Le principal inconvénient du greffage covalent est la limitation du nombre de molécules utilisables à celles dont la fonctionnalisation est possible.

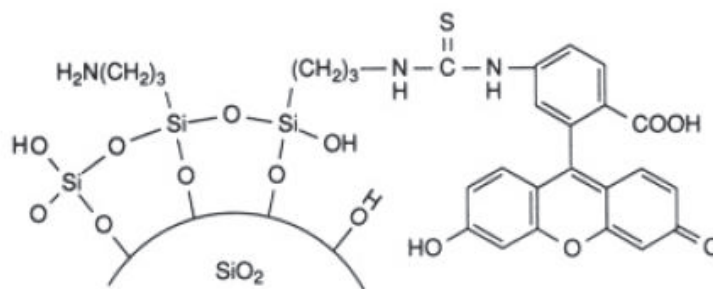


Figure 23 Schéma de principe de la formation d'une liaison covalente entre l'isothiocyanate de fluorescéine et la silice après réaction avec l'agent de couplage APTES [46]

Le second procédé consiste à incorporer les molécules fluorescentes d'intérêt par simple affinité physico-chimique (liaisons faibles ou électrostatiques) ou effet stérique [51, 62], sans greffage covalent à la silice. Ce procédé est plus simple puisqu'il ne nécessite aucune modification chimique de la molécule à encapsuler. La molécule doit cependant être de masse molaire assez élevée et posséder une bonne affinité pour la silice [62]. De plus dans ce cas, les taux d'incorporation sont plus faibles et des problèmes de stabilité vis à vis du relargage peuvent avoir lieu [62]. Ainsi même si l'incorporation de molécules luminescentes sans liaison covalente a été réalisée par voie Stöber dans quelques cas isolés [49, 63], ce procédé reste dans l'ensemble assez peu utilisé. De plus lors de l'incorporation de molécules par cette méthode, les nanoparticules obtenues peuvent être assez polydisperses. Shibata et al. [49] en ont par exemple fait l'expérience en encapsulant deux molécules fluorescentes solubles dans l'eau (la porphyrine et le bleu de Nile) par cette méthode. Afin d'obtenir des particules homogènes, il est donc souvent nécessaire de fonctionnaliser la molécule à incorporer avec un agent de couplage silane, comme l'a notamment montré le groupe de Wiesner U. [39, 52, 53].

En milieu non confiné, la méthode la plus efficace est donc l'utilisation de molécules fonctionnalisées possédant des groupements silanes permettant leur greffage covalent à la silice. Cela limite le choix des molécules utilisables. L'incorporation non covalente en revanche permet une plus grande liberté de choix. Dans ce cas, les molécules doivent cependant posséder une forte affinité pour la silice puisqu'elles sont initialement solubilisées dans l'ensemble du milieu réactionnel. Sinon elles n'ont en effet pas de raison particulière de se retrouver piégées dans le réseau de silice. La microémulsion inverse, avec son concept de « nano-réacteurs » aqueux semble, en revanche, une méthode plus adaptée pour l'incorporation de molécules sans liaison covalente. En effet le confinement des molécules dans les gouttelettes d'eau, siège de la formation des particules de silice, devrait permettre une incorporation plus efficace.

2.2 Elaboration de particules luminescentes par voie micellaire inverse

L'incorporation de molécules luminescentes dans des particules de silice obtenues par voie sol-gel en microémulsion inverse a été décrite à plusieurs reprises dans la littérature. Ainsi différents types de molécules [1, 35, 64-67] ont été incorporés avec succès sans formation de liens covalents. Parmi ces molécules, les complexes de ruthénium ont particulièrement été étudiés, notamment par le groupe de W. Tan [35, 62, 65, 68]. Même si la microémulsion inverse est particulièrement adaptée pour l'incorporation de molécules sans liaison covalente, de nombreuses études se sont également intéressées à l'incorporation covalente et au greffage en surface [69-81]. En effet un inconvénient majeur de l'incorporation non covalente est la stabilité des molécules incorporées vis-à-vis du relargage [72]. Les organolanthanides sont le type de molécules ayant suscité le plus d'intérêt pour la synthèse de nanoparticules de silice luminescentes en microémulsion [57, 58, 71-79, 81-91]. Dans la suite de cette partie, nous nous intéresserons donc exclusivement aux études traitant des organolanthanides. Dans un premier temps, nous dresserons un aperçu des systèmes mettant en jeu des organolanthanides fonctionnalisés par un groupement silane en microémulsion avant de se concentrer sur les méthodes d'incorporation sans liaison covalente.

2.2.1 Incorporation par voie chimique : greffage covalent

De même que pour le procédé Stöber, cette méthode permet d'une part de s'assurer qu'une grande quantité de complexe est effectivement encapsulée, et d'autre part que les particules hybrides formées sont stables, sans risque de relargage de l'organolanthanide. Le complexe de lanthanide doit donc posséder un groupement silane hydrolysable permettant son inclusion dans le réseau de silice (ou son greffage à la surface des particules).

L'équipe de J. Yuan [74] a été la première à incorporer un complexe d'euporium (structure chimique détaillée à la Figure 24) lié chimiquement à l'intérieur de nanoparticules de silice par voie micellaire inverse. Cette étude est consécutive à l'incorporation non covalente du même complexe en microémulsion inverse quelques mois auparavant par la même équipe [83]. Afin d'augmenter la stabilité du complexe incorporé, ils ont ainsi proposé d'utiliser l'APTES afin de lier chimiquement le complexe à la matrice de silice. Des caractérisations par microscopie électronique en transmission ont permis de révéler que l'incorporation était bien homogène. Les différentes étapes du procédé sont décrites à la Figure 24.

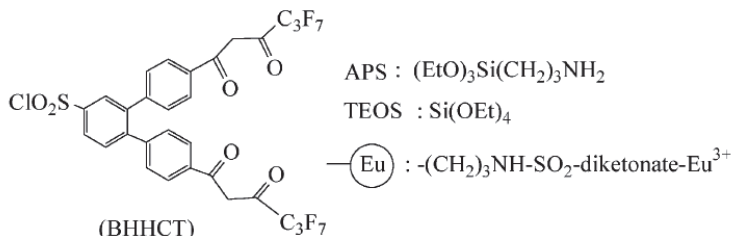


Figure 24 Schéma de principe de l'incorporation covalente d'un complexe de ter-phényle d'Europium dans des particules de silice par voie micellaire inverse après modification du complexe par l'APTES [74].

A la suite de ces travaux datant de 2004, un certain nombre d'autres études ont été effectuées. Par exemple, H. Zhang et al. [77] ont reporté une méthode similaire en utilisant l'aminopropyl (triméthoxy) silane (APTMS) pour modifier le ligand (Figure 25). Ils ont ainsi été capables d'incorporer de manière covalente des complexes de terbium et d'euprômium dans des nanoparticules de silice, démontrant par la même occasion qu'il était possible d'ajuster le signal d'émission en jouant sur le rapport Eu/Tb. De plus, ils ont démontré, la très grande stabilité des particules obtenues vis à vis du relargage à travers des analyses ICPMS des surnageants. Comme cela avait été précédemment observé, les images MET montrent que les complexes sont distribués de façon homogène au sein des particules.

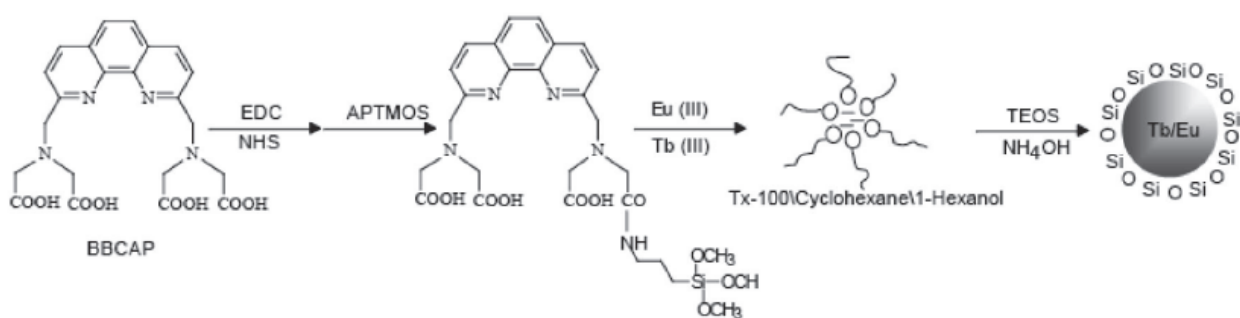


Figure 25 Schéma de principe de la modification chimique du ligand 2,9-bis[N,N-bis(carboxyméthyle)aminométhyle]-1,10-phenanthroline par l'ATMOS et son incorporation dans des particules de silice après complexation avec Eu(III) ou Tb(III) [77].

Le greffage covalent permet également d'incorporer des organolanthanides hydrophobes par microémulsion inverse comme l'ont montré Y. Guan et al. [78, 82] (Figure 26). Ils ont également mis en évidence l'influence de la nature du solvant sur les propriétés de luminescence. En effet l'émission est plus intense dans le cas de solvants peu polaires et faiblement coordinants. Cela vient probablement d'une décooordination partielle du complexe due à une compétition avec les solvants polaires (par leurs atomes d'oxygène).

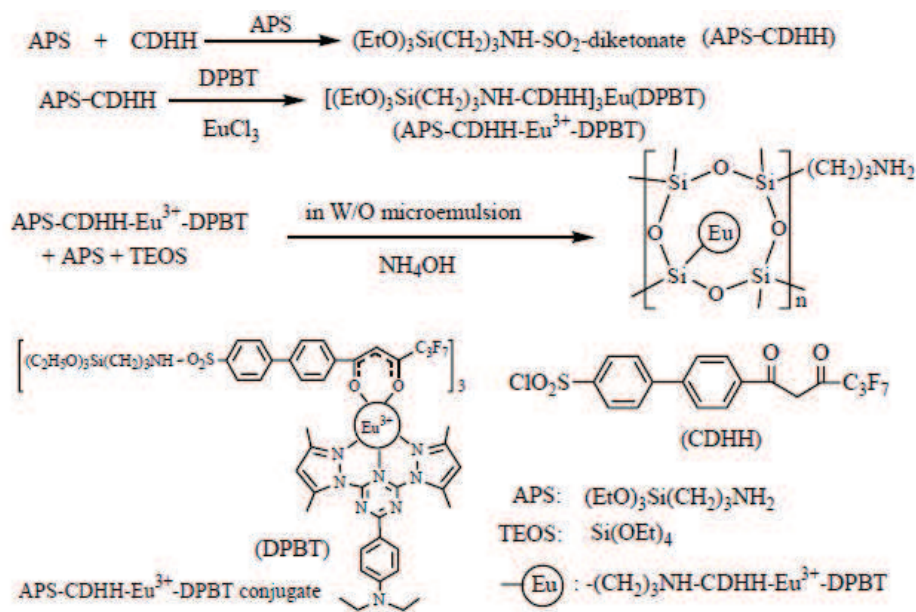


Figure 26 Schéma de principe de la modification du ligand β -dicétone par l'agent de couplage APTES suivi de l'incorporation du complexe hydrophobe résultant dans des particules de silice par voie sol-gel en microémulsion inverse. [78]

L. Lu et al. [79] ont mis au point un marqueur luminescent pour la détection de l'anthrax en combinant la luminescence de la Fluorescéine Isothiocyanate, incorporée au cœur des particules, et celle d'un complexe d'euporium greffé à la surface des particules qui avaient été préalablement fonctionnalisées par l'APTES (réaction entre l'amine et la fonction anhydrique du ligand). L'anthrax est identifié par le dipicolinate de calcium qui, en remplaçant les molécules d'eau de la sphère de coordination du complexe d'euporium, entraîne une augmentation de son rendement quantique (diminution du quenching induit par les molécules d'eau). Des études très récentes s'intéressent à de nouvelles voies de greffage en surface ou à cœur, par « click chemistry » par exemple [81], ou en synthétisant des ligands possédant une fonction silane [71].

L'insertion par voie chimique d'organolanthanides dans le réseau de nanoparticules de silice présente donc de nombreux avantages : homogénéité du dopage au sein des particules, quantités incorporées plus importantes et stabilité accrue vis à vis du relargage. A ce titre, l'influence et l'importance d'une incorporation covalente sur les propriétés des matériaux hybrides (type « bulk ») synthétisés par voie sol-gel a été largement discutée dans la littérature [72, 92-97]. Les mêmes effets ont été observés quand le procédé sol-gel est transposé à la synthèse de nanoparticules en milieu confiné. Cependant la modification nécessaire du ligand, en plus de compliquer le procédé de synthèse, peut provoquer une diminution des performances du complexe formé. En effet la synthèse de complexes avec une bonne stabilité (chimique et face au photoblanchiment), qui s'excitent dans le visible, tout en présentant des propriétés de luminescence intéressantes (haut rendement quantique, sensibilisation de plusieurs terres rares, émission dans l'infra-rouge...) est très ardue et toujours en développement [98-100]. L'ajout d'une contrainte supplémentaire pourrait donc restreindre les futures améliorations, ou l'utilisation de certains complexes très performants mais ne pouvant pas être fonctionnalisés.

2.2.2 Incorporation par voie physico-chimique : sans greffage covalent

L'incorporation sans liaison covalente à la matrice, malgré les limitations actuelles précitées, permet néanmoins d'utiliser les organolanthanides tels quels sans avoir recours à une modification chimique préalable. Au-delà d'une mise en œuvre plus simple, une plus grande variété de ligands est ainsi accessible.

Comme cela a déjà été évoqué précédemment, dans le premier exemple d'incorporation d'organolanthanides dans des nanoparticules de silice par microémulsion inverse, le complexe n'était pas lié à la matrice. En 2004, J. Yuan et al. [83] ont ainsi décrit l'incorporation d'un complexe d'euporium dans des particules de différentes tailles en jouant sur la nature du co-tensioactif. Les images MET ont révélé que les complexes étaient incorporés sous forme de petits agrégats non cristallisés au sein de la silice. En revanche lors de l'incorporation covalente de ce même complexe, aucun point de contraste n'avait été observé, laissant penser que les molécules étaient réparties de manière homogène au sein de la matrice. Un comportement similaire avait déjà été observé lors du dopage de gels de silice [72, 92-97], ou lors de l'incorporation non covalente d'un complexe de ruthénium par voie micellaire inverse [68]. Deux autres complexes différents, un de terbium [101] et l'autre d'euporium [102] ont été incorporés par la même équipe très peu de temps après. Les images MET ont également montré des petits agrégats de complexe à l'intérieur des particules et même une aggrégation à cœur dans le cas du complexe au terbium (Figure 27). Les spectres d'émission et d'excitation des complexes libres et des nanoparticules dopées sont par ailleurs identiques. Le rendement quantique des complexes incorporés est en revanche bien plus faible que quand ils sont en solution. La cause de cette diminution a été attribuée à l'absorption de la silice. Aucune investigation n'a en revanche été menée pour détecter un éventuel phénomène de relargage dans ces trois études. Le nombre de complexes incorporés a été estimé à partir de l'intensité de luminescence des complexes libres.

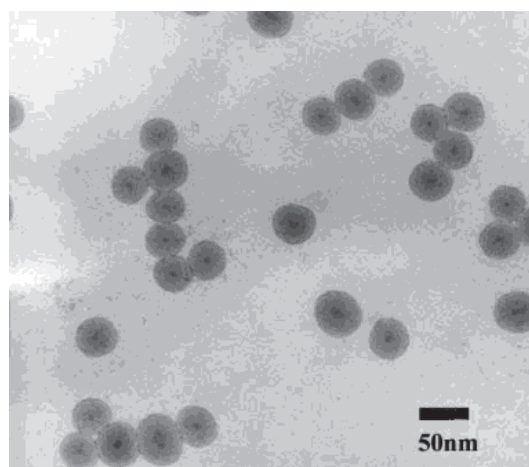


Figure 27 Image MET des nanoparticules de silice dopées par un complexe de Terbium sans liaison covalente par microémulsion inverse. Les points noirs à cœur représentent les complexes qui se sont agglomérés pendant la croissance de la silice [101]

Y. Chen et al. [89] ont utilisé la même méthode pour estimer la quantité d'un complexe de terbium encapsulé. Ils ont ainsi montré que les nanoparticules de silice contenaient environ 340 complexes et que leur intensité de luminescence était environ 100 fois plus importante que celle d'un chromophore classique (la fluorescéine isothiocyanate). Le ligand utilisé est composé de deux entités, l'une permettant d'augmenter sa solubilité dans l'eau et l'autre jouant le rôle d'«antenne».

Ils ont estimé qu'il n'y avait pas de relargage de leur complexe en se basant sur l'absence de luminescence dans les surnageants. Les images MET ne montrent en revanche pas d'agrégation du complexe à l'intérieur des particules de silice.

Depuis, deux études plutôt orientées sur les propriétés de luminescence des particules, ont décrit l'incorporation de ligands permettant d'exciter à la fois l'euprécium et le terbium par voie micellaire inverse [87, 90]. Là non plus, aucun relargage n'a été observé. La quantité de complexe par particule a été estimée en faisant l'hypothèse que l'incorporation était totale, mais aucune caractérisation quantitative n'a été effectuée.

Récemment au laboratoire, le travail de thèse de J. Samuel a permis d'encapsuler avec succès deux organolanthanides dans des nanoparticules de silice sans liaison covalente [91]. Les ligands tripodes utilisés sont présentés à la Figure 28. Les complexes formés hydrosolubles présentent une très bonne stabilité chimique et des propriétés de luminescence remarquables dans le visible et dans le proche infra-rouge [103, 104]. Les auteurs ont ainsi été capables d'ajuster l'émission des nanoparticules en incorporant des complexes de différentes terres rares (Nd, Yb, Eu, Tb). Des caractérisations microscopiques poussées ont permis de mettre en évidence des différences de comportement en fonction des propriétés physico-chimique du ligand. Le complexe le moins hydrosoluble se retrouve en effet à la surface des particules alors que l'autre se situe au cœur. Aucun relargage n'a été observé dans les deux cas, et pour la première fois l'incorporation a été quantifiée par ICPMS.

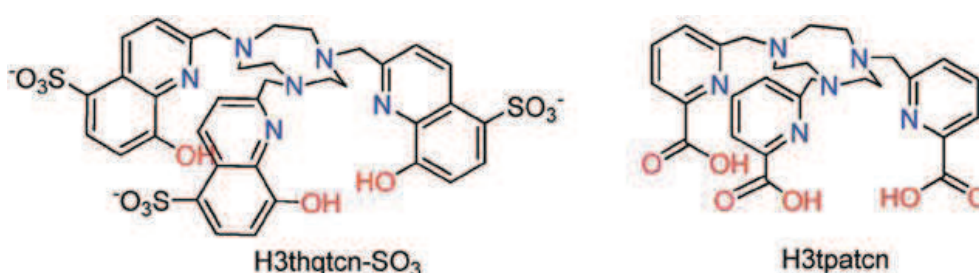


Figure 28 Structure chimique des ligands tripodes possédant un environnement de coordination rigide. Ln-tpatcn (Ln = Eu, Tb, Nd) et Yb-thqtcnSO₃ ont été incorporés dans des particules de silice par voie micellaire inverse sans formation de liaisons covalentes [91]

L'incorporation des complexes de lanthanide dans des nanoparticules de silice sans liaison covalente a été peu décrite dans la littérature. L'incorporation chimique permet en effet de résoudre toutes les limitations actuelles de l'incorporation par voie physico-chimique. Néanmoins pour pouvoir utiliser les avantages du confinement dans des nanoparticules, tout en utilisant des organolanthanides possédant des propriétés intrinsèques supérieures (stabilité, efficacité), la seconde voie semble être prometteuse bien que plus ardue. La synthèse par voie micellaire inverse étant la plus adaptée pour ce type d'incorporation, c'est celle qui a été étudiée dans cette thèse. Cependant il s'avère que très peu d'études ont quantifié avec précision le relargage des complexes incorporés et surtout l'efficacité de cette incorporation. En effet, déterminer le nombre de complexes incorporés à partir de l'intensité de luminescence des complexes en solution est une méthode approximative qui ne prend pas en compte l'influence du confinement dans la silice. Or de nombreuses études ont montré que la quantité de molécules incorporés et l'effet d'« écrantage » de la silice pouvaient avoir une

influence sur les propriétés de luminescence [52, 53, 83, 86, 90, 101]. Une récente étude a d'ailleurs mis en évidence ce problème dans le cas de l'incorporation de complexes de ruthénium et d'ytterbium [86]. Des concentrations différentes ont ainsi été obtenues entre la méthode basée sur la luminescence et une quantification par spectrométrie d'émission atomique couplée à une torche plasma (ICP-AES, Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectroscopy). Le manque de moyen de quantification fiable est aujourd'hui un frein pour le développement et l'optimisation de tels systèmes. Un des objectifs de cette partie est donc de développer une méthode de quantification permettant de caractériser finement les particules dopées. Ce point sera abordé dans la section 4 mais auparavant, il s'agit déjà de s'assurer que les organolanthanides choisis peuvent effectivement être encapsulés (au moins une partie) dans le réseau de silice par microémulsion inverse.

3 Incorporation d'organolanthanides dans des nanoparticules de silice par voie micellaire inverse sans liaison covalente

3.1 Présentation des organolanthanides utilisés

Les deux organolanthanides utilisés dans cette partie ont été développés dans le cadre de la thèse d'A. Nonat effectuée au Laboratoire de Reconnaissance Ionique et Chimie de Coordination de Grenoble [105]. Les structures chimiques des ligands H₃ebpatcn et H₃tpatcn sont présentées à la Figure 29. La synthèse de ces deux ligands a été effectuée suivant les protocoles décrits par A. Nonat dans sa thèse et publiés [103, 106].

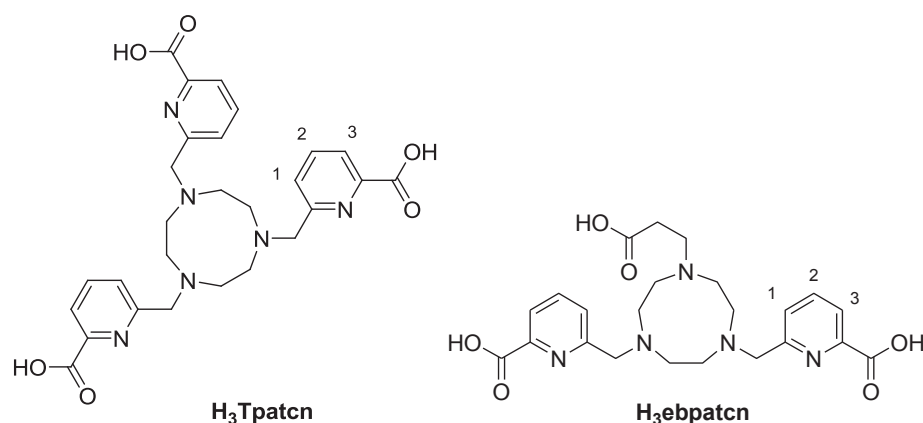


Figure 29 Structure chimique des ligands H₃Tpatcn [103] (à gauche) et H₃Ebpactn [106] (à droite)

Les complexes de lanthanide ont ensuite été préparés *in situ* en dissolvant des quantités équimolaires de ligand et de sel de lanthanide Ln(OTf)₃ dans H₂O. Le pH a été ajusté par des solutions de KOH (1 M et/ou 0,1 M). Après la formation du complexe, le pH est ajusté à pH=6,5. Pendant toute cette thèse, des complexes [Eu(tpatcn)] et [Tb(ebpactn)H₂O] à une concentration de 10⁻⁰² M seront utilisés. (Remarque : par la suite le complexe [Tb(ebpactn)H₂O] sera noté [Tb(ebpactn)]). Les deux complexes sont parfaitement solubles dans l'eau à cette concentration et présentent une bonne stabilité. Ce dernier point est primordial afin de s'assurer que le lanthanide est bien coordonné au ligand et qu'il ne risque pas de se retrouver libre dans le milieu biologique. En plus du risque de toxicité, la luminescence serait perdue. En cas de décoordination partielle, les performances de luminescence seraient aussi affectées par interaction entre le lanthanide et le solvant. Il s'agit donc de s'assurer que les complexes formés resteront stables et conserveront leur structure dans les conditions de synthèse utilisées. La stabilité d'un complexe est évalué par le pL qui est égal à -log[L] où L est la concentration en lanthanide libre, restant non coordonné, mesuré dans des conditions normalisées [105]. Plus le pL est élevé et plus la coordination est forte. Pour le ligand H₃ebpatcn cette valeur a été déterminée avec le Gd(III) et est égal à 13,1 [106]. Pour H₃tpatcn c'est le Tb(III) qui a été utilisé et cette valeur pour ce complexe est de 14,9 [105]. Du fait de la proximité des atomes de Tb(III), Eu(III) et Gd(III) dans le tableau périodique, on peut penser que leurs pL sont similaires. Ces valeurs dénotent d'une forte coordination qui permet d'utiliser ces complexes en solution et de les

injecter dans des animaux de petites tailles [105]. En revanche ils ne sont pas suffisamment stables pour être utilisé chez l'humain. Le fait de les confiner dans une nanoparticule pourrait par exemple permettre d'améliorer cette stabilité. La stabilité des complexes de lanthanide est également dépendante du pH. Pour des valeurs de pH inférieures à 3 une dissociation des complexes [Eu(tpatcn)] et [Tb(ebpatcn)] a été observée [105]. C'est pourquoi les particules de silice seront exclusivement formées sous catalyse basique.

Ces deux ligands sélectionnés sont dérivés du picolinate et permettent de sensibiliser les ions Eu(III) et Tb(III) [103, 105, 106]. Cependant dans la cadre de cette thèse, nous étudierons seulement deux complexes parmi les quatre : [Eu(tpatcn)] et [Tb(ebpatcn)]. En effet, l'objectif ici est d'étudier l'incorporation des complexes dans des nanoparticules de silice. Or vu la proximité de Eu(III) et Tb(III) dans le tableau périodique, la complexation de l'un ou de l'autre de ces deux ions lanthanides ne devrait pas affecter les mécanismes d'incorporation, basés avant tout sur la nature du ligand. L'utilisation de deux terres rares permettra en revanche de pouvoir aisément distinguer l'émission de l'un ou de l'autre. Les spectres d'excitation et d'émission de ces deux complexes en solution sont présentés à la Figure 30.

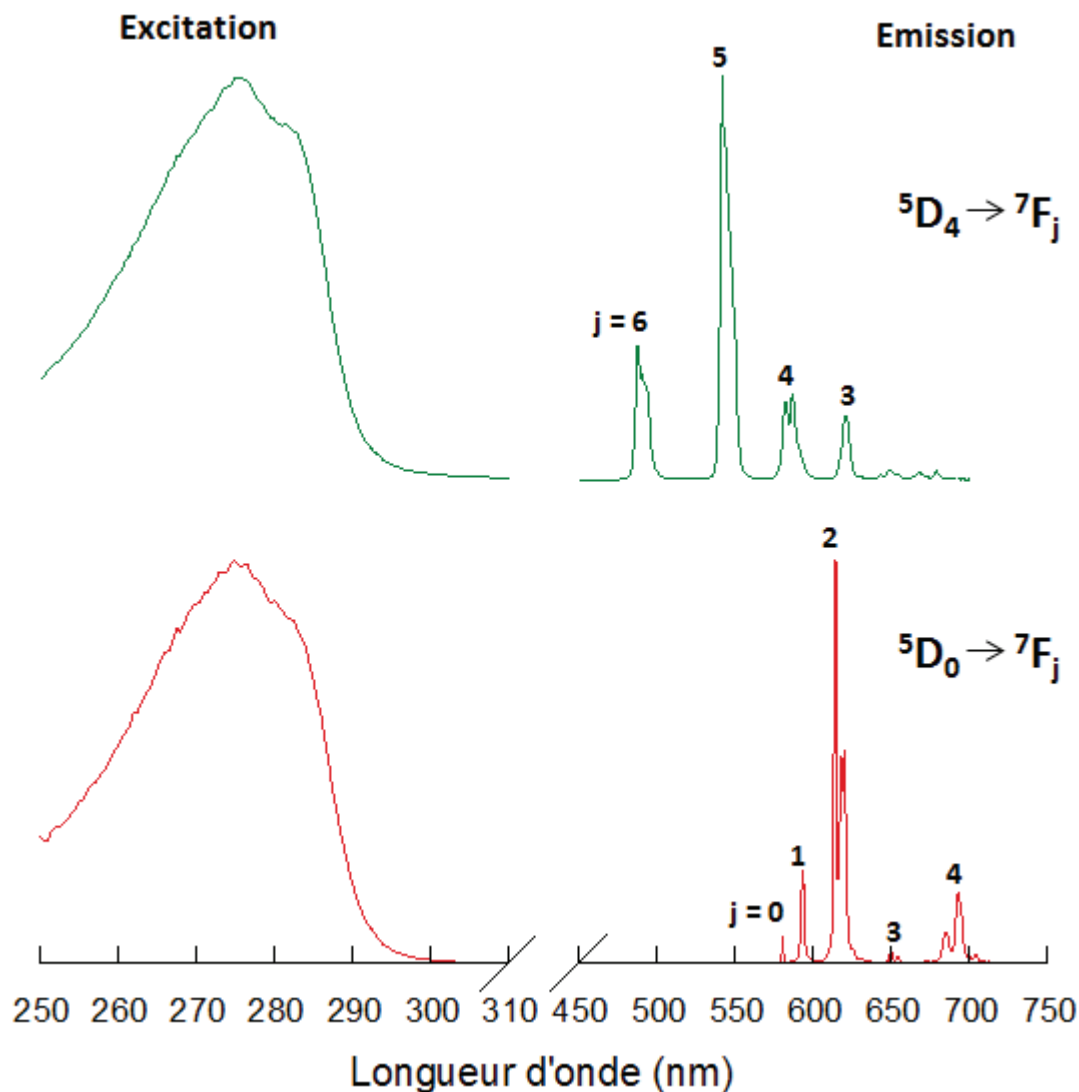


Figure 30 Spectres d'excitation et d'émission des complexes [Eu(tpatcn)] (rouge) et [Tb(ebpatcn)] (vert) en solution dans l'eau à 0,01 M.

Les rendements quantiques dans l'eau de [Eu(tpatcn)] et [Tb(ebpatcn)] sont respectivement de 9,0 % [105] et de 39 % [106]. Les temps de vie sont quant à eux de 1,08 ms [105] et de 1,60 ms [106] respectivement. En effet, les complexes formés à partir de ligands tripodes basés sur le pivot 1,4,7-triazacyclononane présentent une grande stabilité en solution aqueuse (pour des pH supérieurs à 3) et conduisent à des rendements quantiques très élevés. La rigidité et la symétrie des complexes formés jouent notamment un rôle sur ces excellentes propriétés [103, 105]. L'un des objectifs de cette thèse est ainsi de pouvoir maîtriser l'incorporation de ces complexes, parmi les plus performants de la littérature, sans avoir à les modifier chimiquement.

3.2 Protocoles de synthèse des nanoparticules

Les particules de silice ont donc été synthétisées par voie micellaire inverse (ou microémulsion). C'est une méthode relativement simple à mettre en œuvre qui ne nécessite pas des conditions extrêmes de température et de pression. De plus, la taille et la forme des particules peuvent être facilement contrôlées en modifiant les paramètres de synthèse tels que : le rapport eau/tensioactif, la nature du tensioactif, la concentration et la nature des réactifs. Cette grande flexibilité a permis de synthétiser des particules de différentes tailles tout en utilisant la même méthode. Deux protocoles de synthèse issus de la littérature et adaptés à l'encapsulation des complexes de lanthanide, ont été ainsi étudiés. Le premier système est une microémulsion quaternaire constituée d'un mélange TX-100/Hexanol/Cyclohexane/Eau qui permet de synthétiser des nanoparticules de silice avec une taille d'environ 50 nm [35, 91]. Le deuxième système étudié permet quant à lui d'obtenir des particules plus petites, d'environ 15 nm, grâce à un équilibre ternaire Igepal CO-520/Cyclohexane/Eau [35]. Nous avons choisi d'étudier ces deux systèmes afin de mettre en évidence une éventuelle influence de la nature du tensioactif ou de la taille des particules de silice sur l'incorporation. De plus, le fait de disposer de particules dans des gammes de tailles différentes pourrait également être intéressant pour des études de toxicité. En effet la taille, et la morphologie, sont en général des paramètres importants pour évaluer la toxicité des nanoparticules [107].

3.2.1 Système quaternaire

Le premier système utilisé est une microémulsion basée sur un équilibre quaternaire Triton X-100/Hexanol/Eau/Cyclohexane. Dans ce mélange, le tensioactif de nom usuel Triton X-100 est l'éther de poly(éthylèneglycol) et d'octylphénol (Figure 31). C'est un tensioactif non ionique de la famille des polyoxyéthylène alkylphénol éthers. Le Triton X-100 (HLB= 13,6) est très utilisé dans le domaine de la chimie analytique, la pharmacie ainsi que la biochimie pour la solubilisation des protéines membranaires [108]. Le deuxième composant très important du mélange est l'hexanol désigné par le terme de co-tensioactif. Introduits dans une solution micellaire, les co-tensioactifs, entraînent l'abaissement de la tension interfaciale ainsi que de la concentration micellaire critique [19]. Peu solubles dans l'eau et l'huile, ils s'incorporent dans la structure des micelles et ont des effets importants sur la stabilité et la perméabilité des agrégats formés. Leur présence conduit à l'augmentation du nombre de micelles et à une meilleure pénétration des additifs entre les chaînes aliphatiques du tensioactif. En outre, les co-tensioactifs permettent d'augmenter la quantité d'eau solubilisée dans les solvants organiques non polaires par des agents tensioactifs [109]. L'hexanol est le co-tensioactif le plus efficace pour jouer ce rôle [1]. Par conséquent la présence de l'hexanol dans le mélange favorise l'obtention de l'état d'équilibre entre l'affinité hydrophobe du Triton X-100 pour le cyclohexane et le caractère hydrophile des fractions polaires destinées à la solubilisation de la phase aqueuse du mélange.

Toutes ces caractéristiques intrinsèques au Triton X-100 et à l'hexanol permettent de générer à partir du mélange Triton X-100/Hexanol/Eau/Cyclohexane un système micellaire inverse efficace pour réaliser la réaction d'hydrolyse/condensation de précurseurs alcoxysilanes qui va conduire à la formation de nanoparticules de silice.



Tableau 1 Composition de la microémulsion quaternaire : Triton X-100/Hexanol/Cyclohexane/Eau

Les tensioactifs et le cyclohexane sont mélangés dans un ballon de 50 mL jusqu'à ce que la solution soit bien homogène. L'eau et l'ammoniaque sont ensuite ajoutés et le mélange est laissé sous agitation magnétique pendant 30 minutes avant d'ajouter le TEOS. Après 24 h d'agitation, les particules de silice sont récupérées par centrifugation après les avoir déstabilisées par un ajout d'acétone (3 à 4 fois le volume total de la microémulsion). Les particules sont ensuite lavées trois fois à l'éthanol et une fois à l'eau par centrifugation et redispersion successives (au bain à ultrasons). Les particules finales sont dispersées dans l'eau et leur morphologie est caractérisée par MET. Pour cela une goutte de la solution colloïdale est déposée sur la grille en cuivre recouverte d'un film carbone, et évaporée à l'air libre. Les images MET sont présentées à la Figure 32.



67

3.2.2 Système ternaire

Le deuxième système utilisé est une microémulsion basée sur un équilibre ternaire Igepal CO-520/Cyclohexane/Eau. L'Igepal CO-520 (Figure 33) est un tensioactif non-ionique (HLB=10) qui a beaucoup été étudié, en particulier par F. J. Arriagada et K. Osseo-Asare [26, 28-30, 110]. Ce tensioactif a été utilisé pour la synthèse de nanoparticules de silice de petites tailles, d'environ 15 nm de diamètre [35]. L'influence de la nature du tensioactif sur la taille finale des particules dans ce cas a été explicitée par Bagwe et al. [35]. En effet la structure des micelles formées par l'Igepal CO-520, est lamellaire [35, 110]. Cette géométrie favorise les échanges entre gouttelettes ce qui augmente la vitesse de nucléation et induit des tailles de particules relativement faibles (plus de noyaux sont formés initialement, et donc moins de TEOS est disponible pour la phase de croissance). Les particules de silice formées à partir de l'Igepal CO-520 sont donc plus petites que celles obtenues avec le Triton X-100.

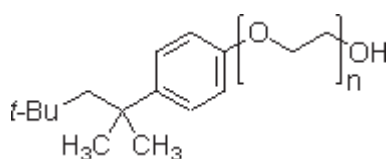


Figure 33 Structure chimique du tensioactif non-ionique Igepal CO-520

Le protocole pour la synthèse de nanoparticules de silice en microémulsion ternaire est issu de la même étude que celle mentionnée plus haut pour les microémulsions quaternaires [35]. La composition d'une microémulsion ternaire utilisée de façon standard dans cette thèse est résumée au Tableau 2.

Tableau 2 Composition classique de la microémulsion ternaire : Igepal CO-520/Cyclohexane/Eau

Composés	Volume (mL)
Igepal CO-520	1,3
Cyclohexane	10
Eau	0,48
TEOS	0,1
NH ₄ OH (28-30 %)	0,1

L'Igepal CO-520 et le cyclohexane sont mélangés dans un ballon de 50 mL jusqu'à ce que la solution soit bien homogène. L'eau et l'ammoniaque sont ensuite ajoutés et la microémulsion ainsi formée est laissée sous agitation magnétique pendant 30 minutes avant d'ajouter le TEOS. Après 24 h d'agitation, les particules de silice sont récupérées par centrifugation après les avoir déstabilisées par un ajout d'acétone. Les particules sont ensuite lavées trois fois à l'éthanol et une fois à l'eau par centrifugation et re-dispersion successives (au bain à ultrasons). Les particules finales sont dispersées dans l'eau et leur morphologie est caractérisée par MET (Figure 34).

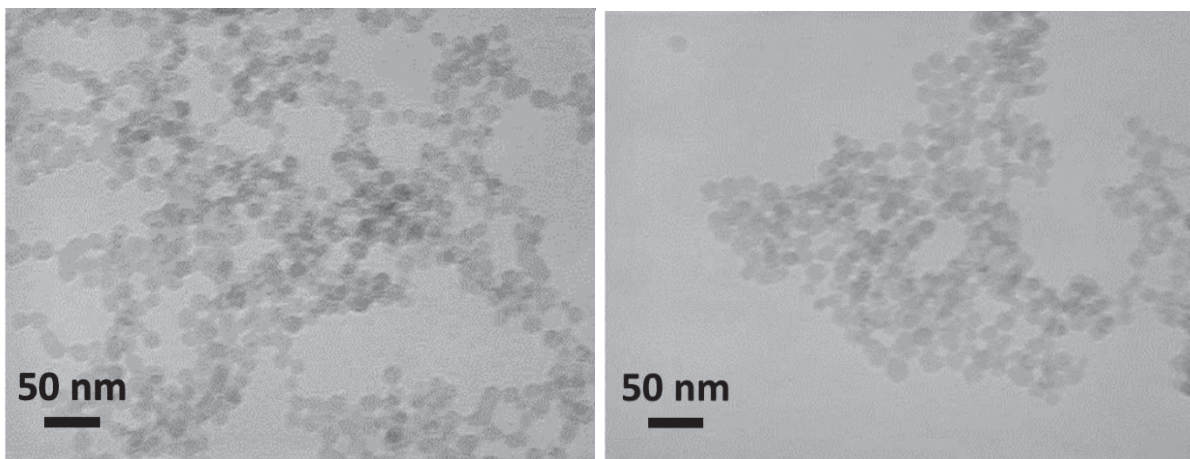


Figure 34 Images MET des nanoparticules de silice obtenues à partir de la microémulsion ternaire

Les particules sont sphériques avec un diamètre moyen de 13 ± 4 nm. Elles sont plus agglomérées que celles obtenues précédemment. Cependant, elles semblent bien individualisées et l'agglomération intervient probablement lors de la préparation de la grille MET. De plus, du fait de leur petite taille, le contraste est moins marqué que pour les particules de 50 nm. La technique de MET utilisée ne permet pas néanmoins d'avoir une meilleure résolution.

3.3 Caractérisations préliminaires des nanoparticules dopées

Le procédé d'incorporation des deux organolanthanides consiste simplement à remplacer la phase aqueuse des systèmes micellaires précédents (480 μ L) par une solution de 400 μ L d'eau plus 80 μ L d'une solution aqueuse de complexe à 0,01 M. Les protocoles de synthèse et de récupération des billes de silice sont par ailleurs en tous points identiques à ceux décrits précédemment. Cependant, afin de s'assurer que tous les complexes sont bien incorporés et qu'ils ne désorbent plus, une étape de lavage supplémentaire a été effectuée. Une fois redispersées dans l'eau, les solutions colloïdales finales ont ainsi été dialysées (MWCO= 3,5 kDa) pendant une semaine (avec changement des eaux de dialyse tous les jours). Il s'agit dans un premier temps de vérifier si l'incorporation des complexes sans liaison covalente a été réalisée avec succès et si une quantité suffisante de complexe a été effectivement piégée à l'intérieur des particules à l'issue du lavage. Les propriétés de luminescence des solutions colloïdales dialysées seront ensuite comparées à celles des complexes libres en solution (dans l'eau) afin d'étudier l'influence de l'incorporation sur l'intégrité des complexes. L'influence de l'incorporation sur la morphologie et la taille des particules sera également déterminée par MET.

3.3.1 Cas du système quaternaire

Les nanoparticules de silice synthétisées à partir de la microémulsion quaternaire et dopées avec [Eu(tpatcn)] ou [Tb(ebpatcn)] sont toujours luminescentes après une semaine de dialyse. Les spectres d'émission et d'excitation enregistrés sont identiques à ceux des complexes en solution (Figure 35). Ceci confirme que les complexes sont bien incorporés et que la symétrie des chélates est conservée dans les particules de silice. Il n'y a donc pas d'interaction entre l'ion lanthanide et la matrice de silice. Une légère différence peut néanmoins être observée sur les spectres d'excitation avec la

disparition de l'épaule à 285 nm quand le complexe est encapsulé, vraisemblablement dû à l'absorption de la silice.

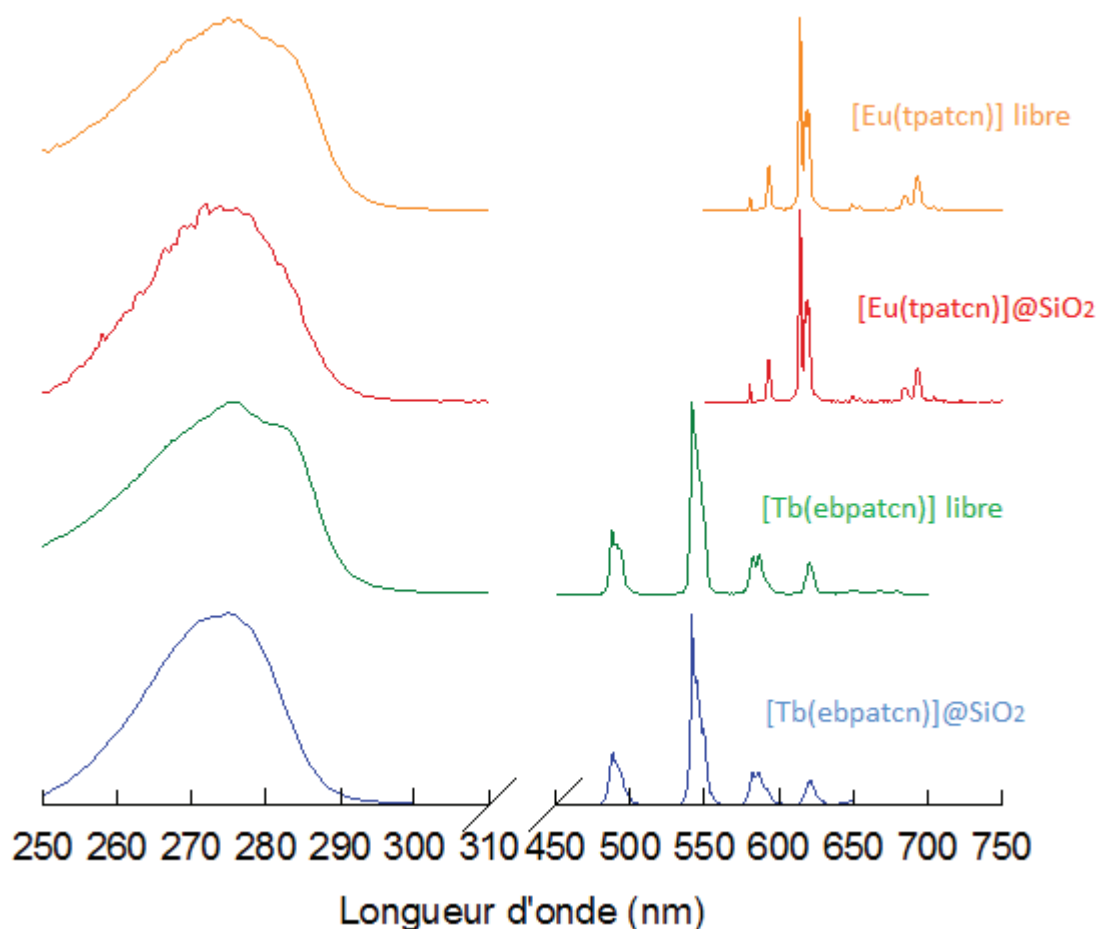


Figure 35 Spectres d'émission et d'excitation normalisés des complexes en solution (vert et rouge pour le Tb(III) et l'Eu(III) respectivement) et incorporés (bleu et orange pour le Tb(III) et l'Eu(III) respectivement) dans les nanoparticules de silice pour le système quaternaire Triton X-100/Hexanol/Cyclohexane/Eau. Pour [Tb(ebpatcn)], les longueurs d'onde maximales d'excitation et d'émission sont respectivement égales à 275 et 542 nm. Pour [Eu(tpatcn)], elles sont respectivement égales à 275 et 614 nm.

En outre, le temps de vie de [Eu(tpatcn)] est identique à celui du complexe en solution, indiquant que la couche de silice « protège » les ions lanthanide de leur environnement et empêche les processus de désexcitation non radiatifs (Tableau 3). Pour [Tb(ebpatcn)] une légère augmentation du temps de vie est observée quand le complexe est incorporé dans la silice. Cet effet, déjà remarqué [91], est probablement dû à une « rigidification » du complexe par le réseau de silice. En revanche une nette diminution des rendements quantiques est observée quand les complexes sont incorporés dans les particules. Cet effet avait également été observé précédemment [102]. Ceci s'explique par l'absorption importante de la silice à 275 nm qui est en large excès par rapport à la quantité de complexe dans la particule (les rendements quantiques des complexes en solution et incorporés ont en effet été mesurés dans les mêmes conditions).

Tableau 3 Résumé des temps de vie et des rendements quantiques mesurés pour les complexes libres en solution et incorporés dans les particules de silice obtenues par microémulsion inverse en système quaternaire

	[Tb(ebpatcn)]		[Eu(tpatcn)]	
	<i>libre</i>	<i>incorporé</i>	<i>libre</i>	<i>incorporé</i>
λ (émission) (nm)	542	542	614	614
λ (excitation) (nm)	275	275	275	275
Rendement quantique (%)	39	11,2	9,0	3,1
Temps de vie (ms)	$1,60 \pm 0,02$	$2,24 \pm 0,03$	$1,08 \pm 0,01$	$1,07 \pm 0,02$

L'influence de l'incorporation sur la taille et la morphologie des particules a ensuite été étudiée par MET (Figure 36 et Figure 37 pour [Tb(ebpatcn)] et [Eu(tpatcn)] respectivement). Les tailles moyennes des particules dans chaque cas sont résumées au Tableau 4.

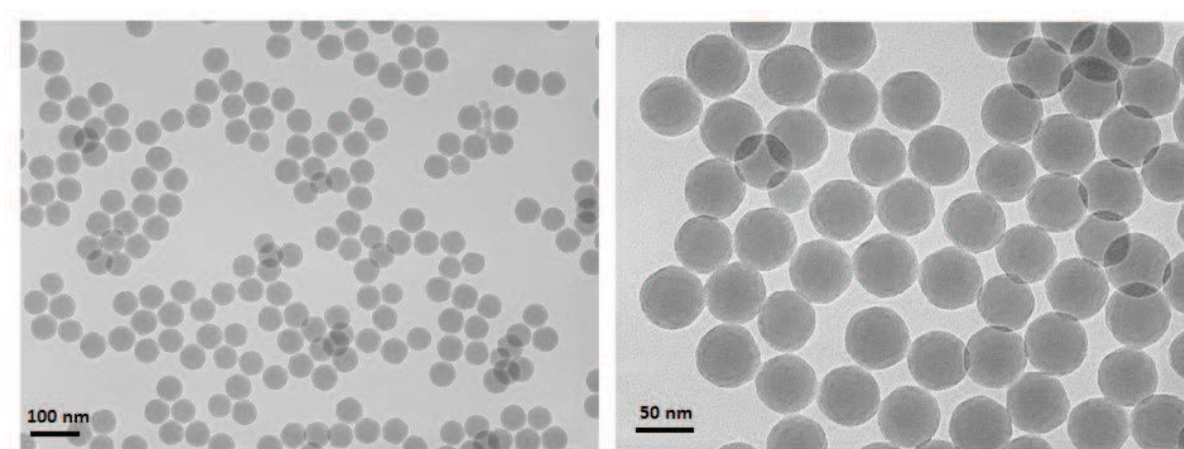


Figure 36 Images MET des nanoparticules de silice obtenues par microémulsion inverse en système quaternaire avec une quantité introduite en [Tb(ebpatcn)] égale à 0,8 µmol.

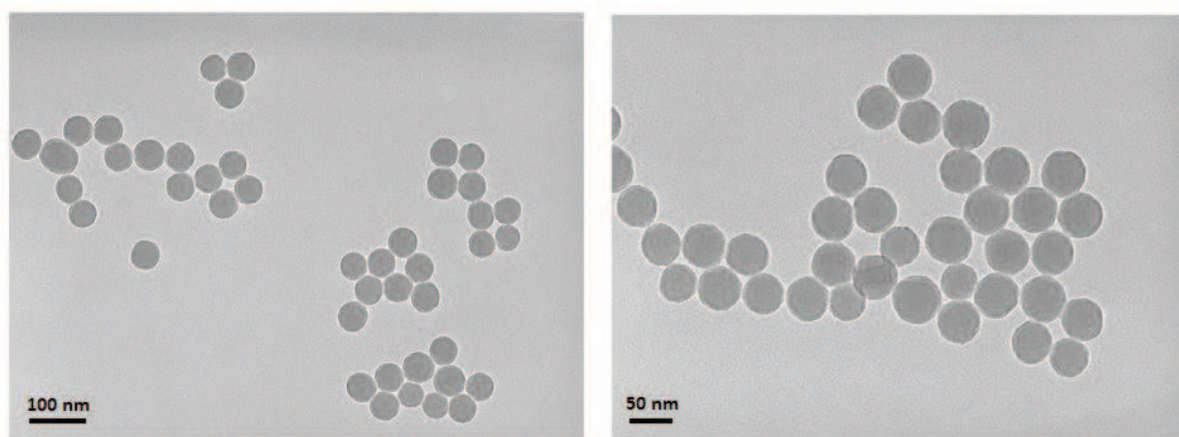


Figure 37 Images MET des nanoparticules de silice obtenues par microémulsion inverse en système quaternaire avec une quantité introduite en [Eu(tpatcn)] égale à 0,8 µmol.

Tableau 4 Influence de la présence des complexes (0,8 μ mol introduite) sur la taille des particules de silice synthétisées par microémulsion inverse en système quaternaire (déterminée à partir des clichés MET)

Echantillon	Diamètre moyen des particules
[Tb(ebpatcn)]@SiO ₂	54 \pm 6 nm
[Eu(tpatcn)]@SiO ₂	50 \pm 6 nm
SiO ₂	50 \pm 4 nm

La taille et la morphologie des particules n'évoluent pas de manière significative lors de l'incorporation des complexes à cette concentration. Les particules restent sphériques avec une distribution en taille étroite. Pour le [Tb(ebpatcn)], une légère augmentation du diamètre moyen des particules semble néanmoins se produire même si cette variation est très faible. De plus aucun point de contraste indiquant la position des organolanthanides n'est observé sur les clichés de MET. Afin d'obtenir plus d'informations quant à la localisation des complexes au sein des particules, des caractérisations microscopiques plus fines ont été effectuées. Ainsi un MET haute résolution et permettant de travailler en mode balayage en champ sombre à hauts angles (High Angle Annular Dark Field, HAADF) a été utilisé. Cette dernière technique permet d'exacerber le contraste des atomes lourds comme les lanthanides. Grâce à cette technique de caractérisation plus puissante, des points de contraste représentant des petits agrégats de complexes de terbium ont pu être révélés (Figure 38). Ils sont répartis de manière homogène sur toute la surface et/ou le volume des particules. Ce résultat est similaire à celui déjà observé dans le cas d'incorporation non covalente [68, 83], comme cela a déjà été présenté dans l'introduction de cette partie. Pour [Eu(tpatcn)], une précédente étude de J.Samuel avait montré que les complexes étaient localisés à la surface des particules [91].

En comparant les clichés en champ sombre, une première différence de comportement entre les deux complexes a pu être observée. Le complexe [Tb(ebpatcn)], plus hydrophile, semble réparti de manière homogène dans le volume de la particule (Figure 38) alors que [Eu(tpatcn)], plus hydrophobe, est préférentiellement localisé en surface (Figure 39). Ainsi même si les deux complexes sont solubles dans l'eau, des différences notables peuvent intervenir lors de leur incorporation comme cela avait déjà été reporté dans la littérature [91].

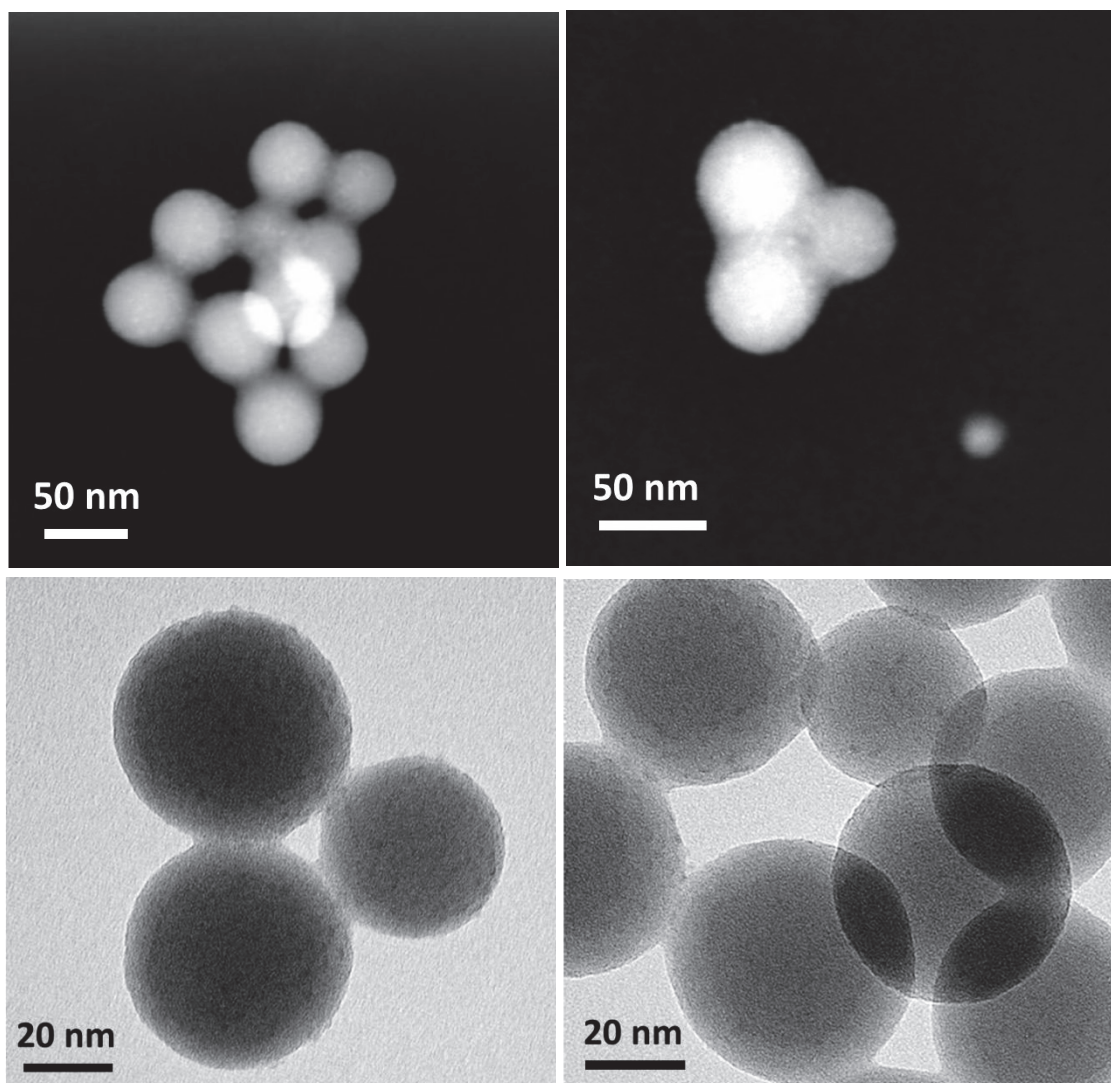


Figure 38 Images MET en balayage en mode HAADF (en haut) et en haute résolution (en bas) des particules de silice obtenues par microémulsion inverse en système quaternaire avec une quantité introduite en $[Tb(ebpatcn)]$ égale à $0,8 \mu\text{mol}$.

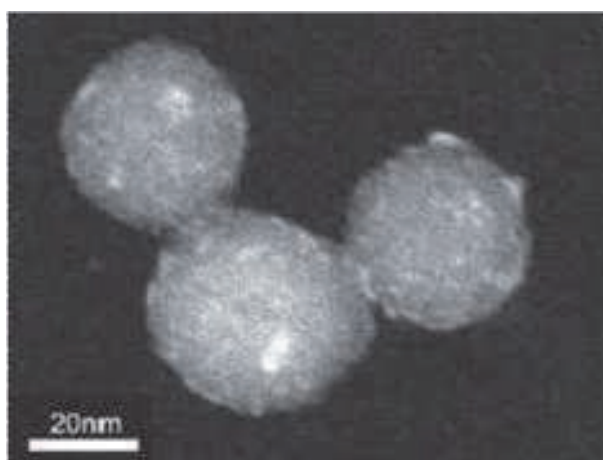


Figure 39 Images MET en balayage en mode HAADF des particules de silice obtenues par microémulsion inverse en système quaternaire avec une quantité introduite en $[Eu(tpatcn)]$ égale à $0,8 \mu\text{mol}$. [91]

3.3.2 Cas du système ternaire

Des résultats analogues à ceux observés pour le système quaternaire, ont été obtenus. Les spectres d'émission et d'excitation, et les temps de vie des complexes ne sont pas modifiés après encapsulation (à l'exception de $[\text{Tb}(\text{ebpatcn})]$, dont le temps de vie a augmenté légèrement une fois incorporé dans les particules de silice, comme observé pour les billes de 50 nm) (Figure 40 et Tableau 5). Il semble donc que le changement de système de tensioactif, et donc des mécanismes de croissance de silice, ne modifie pas les propriétés de luminescence des complexes. Ceci confirme leur stabilité remarquable vis-à-vis de leur environnement. En effet, il a été montré dans la littérature que des complexes moins stables comme le $\text{Ru}(\text{bpy})$ sont sensibles au changement de tensioactif [35]. Tout comme précédemment, on observe par ailleurs une diminution des rendements quantiques après incorporation dans les billes de silice.

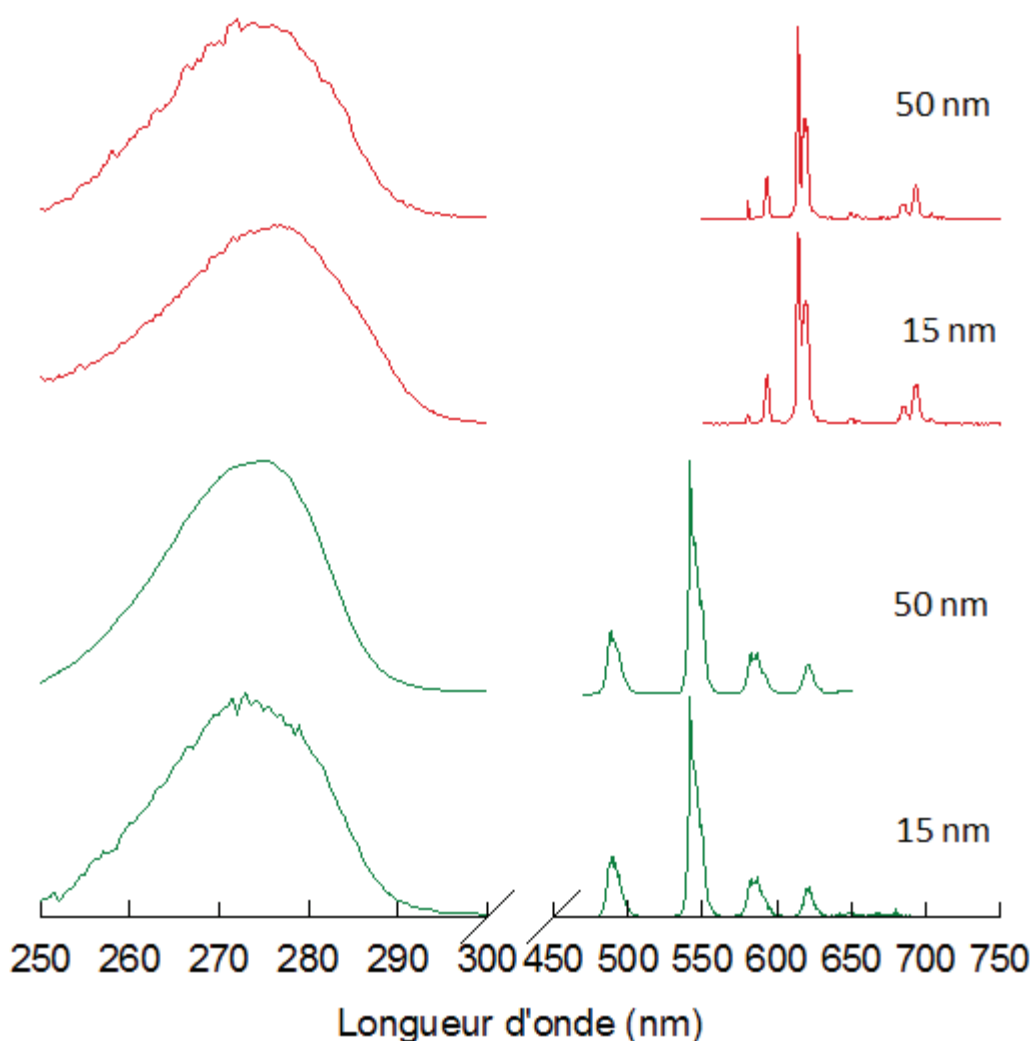


Figure 40 Spectres d'émission et d'excitation des complexes $[\text{Tb}(\text{ebpatcn})]$ (vert) et $[\text{Eu}(\text{tpatcn})]$ (rouge) incorporés dans des nanoparticules de silice de 15 nm et de 50 nm. Pour $[\text{Tb}(\text{ebpatcn})]$, les longueurs d'onde maximales d'excitation et d'émission sont respectivement égales à 275 et 542 nm. Pour $[\text{Eu}(\text{tpatcn})]$, elles sont respectivement égales à 275 et 614 nm.

Tableau 5 Résumé des temps de vie et des rendements quantiques mesurés pour les complexes libres et incorporés dans les particules de silice obtenues par microémulsion inverse en système ternaire

	[Tb(ebpatcn)]		[Eu(tpatcn)]	
	<i>libre</i>	<i>incorporé</i>	<i>libre</i>	<i>incorporé</i>
λ (émission) (nm)	542	542	614	614
λ (excitation) (nm)	275	275	275	275
Rendement quantique (%)	39	7,7	9,0	2,5
Temps de vie (ms)	$1,60 \pm 0,02$	$1,86 \pm 0,03$	$1,08 \pm 0,01$	$1,15 \pm 0,01$

La taille et la morphologie des particules obtenues a également été étudié par MET (Figure 41 et Figure 42 pour [Tb(ebpatcn)] et [Eu(tpatcn)] respectivement). Les tailles moyennes des particules dans chaque cas sont résumées au Tableau 6.

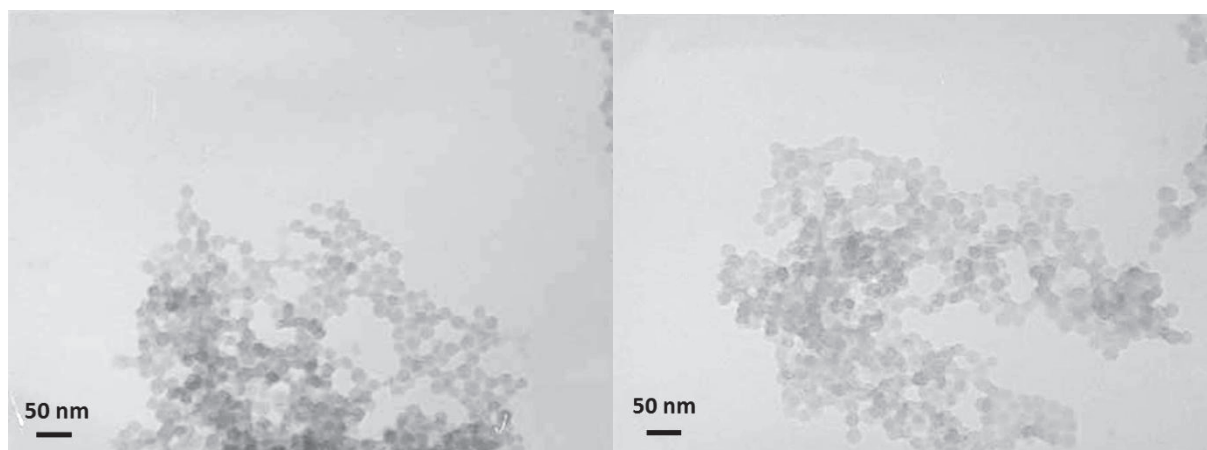


Figure 41 Images MET des nanoparticules de silice obtenues à partir de la microémulsion ternaire avec une quantité introduite en [Tb(ebpatcn)] égale à 0,8 μ mol.

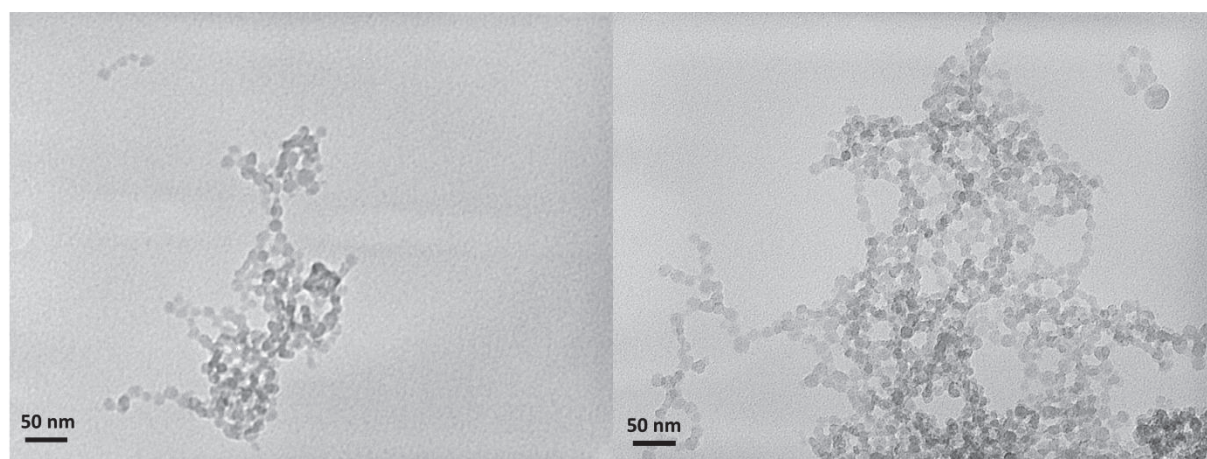


Figure 42 Images MET des nanoparticules de silice obtenues à partir de la microémulsion ternaire avec une quantité introduite en [Eu(tpatcn)] égale à 0,8 μ mol.

Tableau 6 Influence de la présence des complexes sur la taille des particules synthétisées par microémulsion inverse en système ternaire

Echantillon	Diamètre moyen des particules
[Tb(ebpatcn)]@SiO ₂	15 ± 4 nm
[Eu(tpatcn)]@SiO ₂	13 ± 5 nm
SiO ₂	13 ± 4 nm

De même que pour les particules de 50 nm, la taille et la morphologie des particules n'évoluent pas de manière significative lors de l'incorporation des complexes à cette concentration. Un phénomène d'agrégation similaire est observé pour les particules de silice non dopées. L'augmentation de la taille des particules pour [Tb(ebpatcn)] étant très faible, il est difficile de se prononcer surtout vu la qualité des clichés MET. La résolution du MET utilisé ne permet pas de mettre en évidence d'éventuels points de contraste au sein des particules.

3.4 Conclusion

Le [Tb(ebpatcn)] et le [Eu(tpatcn)] ont été incorporés avec succès dans des billes de silice de deux tailles différentes, ce qui permet de valider l'un des objectifs de cette thèse. Dans chaque cas, les propriétés de luminescence des complexes sont conservées après incorporation dans les particules, mis à part une baisse du rendement quantique due à l'absorption de la silice. En outre, la morphologie des particules ne semble pas affectée par la présence du complexe à la concentration testée. Dans tous les cas, les particules obtenues sont sphériques, monodisperses et de tailles équivalentes à celles synthétisées en l'absence de complexe. Même si les deux complexes ont pu être incorporés avec succès, des comportements différents ont néanmoins été observés. En effet, les images STEM en mode HAADF ont révélé que les complexes n'étaient pas localisés au même endroit pour les billes de 50 nm. Même si un comportement analogue devrait a priori être observé pour celles de 15 nm, il n'a pas été possible de le confirmer à cause d'une résolution insuffisante. Les mécanismes d'incorporation sont donc différents pour les deux organolanthanides. Les complexes n'étant pas liés à la matrice de silice, l'incorporation est basée sur l'affinité des complexes pour le « nano-réacteur » d'eau et la silice. Ces différences de comportement ont un impact direct sur les propriétés finales des particules. Afin d'étudier plus précisément ces phénomènes et d'envisager une application, il est nécessaire de caractériser précisément le nombre de complexes incorporés par particule. En effet l'analyse des surnageants a révélé la présence de complexes libres dans tous les cas. Ainsi l'incorporation n'est pas totale et une partie du complexe est perdue lors des étapes de lavages par centrifugation. De plus il s'avère que ces surnageants contiennent également des particules de silice, indiquant que la séparation par centrifugation ne permet pas de récupérer la totalité des billes de silice. Au vu de ces résultats, il est apparu nécessaire de mettre au point une méthode de quantification fiable nous permettant de caractériser plus finement le mécanisme d'encapsulation des complexes de lanthanide et d'identifier de possibles améliorations.

4 Quantification du processus d'incorporation

La partie précédente a décrit le procédé d'incorporation et son influence sur la taille et la morphologie des particules. L'effet de l'incorporation sur les propriétés de luminescence des complexes a aussi été étudié par spectrofluorimétrie. Ces mesures ont permis de confirmer qualitativement le succès de l'incorporation. En effet les solutions colloïdales étant toujours luminescentes après les multiples étapes de lavage et de dialyse, nous avons considéré qu'une partie des complexes était effectivement piégée à l'intérieur des particules de silice (comme cela avait été précédemment démontré pour $[\text{Eu}(\text{tpatcn})]$ [91]). Cependant ces premiers résultats ne permettent pas de déterminer la quantité exacte de complexes incorporés. Cette information est capitale d'une part pour caractériser complètement les particules finales, mais également pour évaluer l'efficacité de l'incorporation. Jusqu'à maintenant, très peu d'études se sont intéressées à quantifier précisément le nombre d'organolanthanides incorporés dans des particules de silice. En effet contrairement aux molécules organiques usuelles (rhodamine, flavine, fluorescéine...) les complexes de lanthanide absorbent dans la même région que la silice. Ainsi la spectrophotométrie d'absorption, couramment utilisée pour déterminer le taux d'incorporation avec les fluorophores classiques [1, 33], n'est pas applicable dans le cas des organolanthanides. C'est pourquoi la majorité des études se limitent à vérifier l'absence de « fuites » (ou relargage) des complexes hors des particules après la synthèse. Le nombre de complexes par particule est généralement estimé en utilisant l'intensité de luminescence (par comparaison avec la luminescence du complexe libre)[89]. Cependant cette méthode peut induire des déviations car elle ne prend en compte ni l'effet d'écrantage de la silice ni d'éventuels phénomènes de quenching dus au confinement des molécules [86, 90]. Dans le cas des procédés d'incorporation par voie covalente, il est raisonnable d'admettre que la majorité des molécules est effectivement incorporée dans les particules. En revanche, pour les processus d'incorporation sans liaison covalente, la molécule n'ayant pas de réactivité particulière vis-à-vis de la silice, il est probable qu'une partie des molécules soit perdue lors des étapes de lavage. C'est ce qui a été observé dans notre cas. En effet les caractérisations au spectrofluorimètre des eaux de lavage ont révélé la présence de complexes libres, que ce soit pour $[\text{Eu}(\text{tpatcn})]$ ou $[\text{Tb}(\text{ebpatcn})]$, indiquant que l'incorporation n'est pas totale. C'est pourquoi, afin d'estimer l'efficacité de l'incorporation de $[\text{Eu}(\text{tpatcn})]$ et $[\text{Tb}(\text{ebpatcn})]$, un spectromètre de masse couplé à une torche plasma (ICPMS) a été utilisé pour déterminer précisément la concentration en lanthanide dans les particules finales.

4.1 Quantification par ICPMS

L'ICPMS (Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry) est un instrument de quantification atomique très précis et accessible au laboratoire. C'est une méthode qui consiste à ioniser l'échantillon à analyser dans un plasma d'Argon. L'utilisation de cette méthode pour l'analyse de nanoparticules n'est cependant pas triviale, comme l'attestent les nombreux travaux décrits dans la littérature [111, 112]. En effet ces dernières années, l'utilisation croissante des nanoparticules par les industriels, impose le développement de méthodes de quantification, en particulier pour des questions de toxicité, risques sanitaires ou environnementaux [112-116]. Ces études ont révélé que de nombreux facteurs influençaient le résultat des analyses. En effet des déviations importantes

peuvent être observées si le protocole de préparation n'est pas adapté. L'analyse dépend des conditions opératoires et de fonctionnement de l'ICPMS [117], mais aussi du type d'élément à caractériser, de sa taille et de sa concentration [118, 119]. L'analyse par injection directe de nanoparticules est par ailleurs souvent très complexe [113, 120]. C'est pourquoi cette méthode d'analyse nécessite très souvent une méthode de "digestion" des particules par dissolution préalable de la silice par exemple [121]. Or la méthode de dissolution peut également avoir un impact sur le résultat final [111, 122]. Une récente étude a par ailleurs mis en évidence que les terres rares pouvaient induire des interférences lors de l'analyse (formation d'oxydes et d'hydroxydes) [123]. Face à toutes ces possibles interférences, l'utilisation conjointe de différentes techniques d'analyse est généralement requise afin d'optimiser/valider les protocoles expérimentaux [124].

Ainsi, même si l'ICPMS est une technique d'analyse très sensible, la nature de nos échantillons pourrait entraîner quelques complications. Ce sentiment est renforcé par le fait que très peu de nanoparticules dopées avec des organolanthanides ont été caractérisées par ICPMS dans la littérature. En effet, si les particules de silice ne sont pas détruites dans la torche plasma, il est possible qu'elles empêchent l'ionisation de tous les lanthanides présents dans l'échantillon, faussant ainsi le résultat de la mesure. C'est pourquoi, afin de mettre en évidence un éventuel effet de la matrice de silice sur la quantité finale de lanthanides incorporés, différents protocoles d'analyse ont été testés. Ainsi les nanoparticules de silice ont été soit directement injectées dans l'ICPMS, soit un traitement préalable ayant pour but de dissoudre la silice a été effectué. Un traitement à l'acide fluorhydrique est la méthode classique et la plus efficace pour dissoudre la silice. Cependant l'ICPMS utilisé au laboratoire n'est pas compatible avec de telles conditions. L'utilisation de l'acide fluorhydrique est de plus restreinte au CEA. Une méthode alternative de dissolution doit donc être utilisée. Les solutions fortement alcalines peuvent également entraîner la dissociation des liaisons siloxanes. Les échantillons préalablement séchés à 120 °C, ont ainsi été redispersés dans une solution de potasse à 10^{-03} M pendant une semaine avant l'analyse. Il n'était pas possible d'utiliser une solution plus concentrée. En effet, les analyses en ICPMS s'effectuent sur des solutions fortement acides afin de faciliter l'ionisation dans la torche plasma (l'acide nitrique est communément employé car il n'interfère pas avec l'analyse). Or il existe une limite de concentration en ions secondaires au-delà de laquelle des interférences peuvent intervenir, faussant ainsi les résultats. La solution de potasse n'est donc peut-être pas assez concentrée pour dissoudre la silice mais nous espérons cependant que ce sera suffisant pour la « fragiliser ». Enfin, une série d'échantillons a été analysée par un laboratoire extérieur équipé d'un ICPMS compatible avec l'acide fluorhydrique afin de valider le traitement à la potasse. La concentration en lanthanide dans les échantillons finaux (après dialyse) a donc été déterminée par ICPMS de trois manières différentes :

- L'échantillon à analyser (dilué) est préparé directement à partir de la solution colloïdale. Il est acidifié par une solution d'acide nitrique à 65 % (1 % en volume) avant l'analyse.
- La solution colloïdale est séchée puis traitée pendant une semaine par une solution de potasse. L'échantillon à analyser (dilué) est préparé à partir de cette solution et acidifié par une solution d'acide nitrique à 65 % (1 % en volume).
- La solution colloïdale est traitée par une solution d'acide fluorhydrique à 49 % (10 % en volume). L'échantillon à analyser (dilué) est préparé à partir de cette solution et acidifié par une solution d'acide nitrique à 65 % (1 % en volume).

Dans un premier temps, seules les nanoparticules dopées avec [Tb(ebpatcn)] et synthétisées à partir de la microémulsion quaternaire ont été caractérisées. Les résultats des différentes analyses sont résumés au Tableau 7. Le rendement d'incorporation (%) est défini comme suit :

$$\text{Rendement d'incorporation (\%)} = \frac{\text{Nombre de mole de Tb déterminé par ICPMS}}{\text{Nombre de mole de Tb introduite}} \times 100$$

Tableau 7 Résumé des rendements d'incorporation calculés à partir des mesures ICPMS pour les différentes méthodes de préparation des échantillons

Méthode de préparation	Rendement d'incorporation (%)
Sans traitement	2,0 ± 1,8
Traitement KOH	1,8 ± 1,7
Traitement HF	9,7

Les résultats obtenus à partir de l'ICPMS du laboratoire (sans traitement et traitement au KOH) ne sont pas reproductibles et bien plus faibles que la valeur trouvée après traitement à l'acide fluorhydrique. Cela semble indiquer que la coquille de silice influence énormément l'analyse et que la méthode de traitement à la potasse n'est pas efficace pour dissoudre la silice. A ce stade, plusieurs raisons peuvent être avancées pour expliquer de tels résultats. La silice n'est pas détruite par la torche plasma et les ions de terbium contenus à l'intérieur sont protégés. Ceci conduirait à sous-estimer la quantité effectivement incorporée et expliquerait ces valeurs très faibles. Il est aussi possible que le protocole de synthèse et de récupération des nanoparticules (lavages et dialyse) ne soient pas reproductibles. Enfin la préparation des échantillons pour les analyses ICPMS pourrait également induire des incertitudes de mesure. Pour vérifier ces deux derniers points, il faudrait pouvoir vérifier la reproductibilité des résultats obtenus après dissolution à l'HF (discriminant ainsi l'effet de la silice). Ces analyses ne sont pas accessibles au laboratoire et leur coût important n'a pas permis de les reproduire. De plus, la quantification de l'incorporation étant un des objectifs majeurs de cette thèse, nous avons dû trouver une méthode alternative à l'ICPMS. En effet les restrictions d'utilisation de l'acide fluorhydrique au laboratoire et le prix des analyses sur un ICPMS compatible rendent cette technique de caractérisation très contraignante et non adaptée pour des analyses de routine. Le laboratoire a en revanche une grande expérience dans l'utilisation de radio-isotopes pour des activités de traçage, et les équipements nécessaires à disposition. Comme nous allons le voir par la suite, cette technique a permis, en plus de déterminer la quantité finale incorporée, de suivre l'évolution des pertes pendant les étapes de lavage. La partie suivante est consacrée à la mise au point et à la présentation des résultats obtenus par cette technique d'analyse.

4.2 Quantification par traçage radioactif ¹

Les isotopes radioactifs ont été très utilisés pour des applications de traçage dans des domaines divers et variés tels que : l'industrie chimique [125], l'industrie pétrolière [126], l'électronique [127] ou encore pour des problèmes sanitaires et environnementaux [128]. Cette méthode de traçage est en effet très sensible et permet une grande flexibilité d'utilisation avec des contraintes d'analyse moindre comparées aux méthodes chimiques conventionnelles [129, 130]. Elle ne nécessite en effet pas d'étape de préparation particulière avant l'analyse et c'est une méthode non destructive. Un suivi quantitatif en temps réel peut ainsi être effectué rapidement.

4.2.1 Essais préliminaires : présentation du protocole

Dans cette étude, nous avons utilisé le radio-isotope Eu(152) qui possède un temps de demi-vie de 13,5 ans. Ce radioélément artificiel est un émetteur gamma. A partir de cette activité mesurable, la quantité de complexes radioactifs incorporés pourra être déterminée très directement. En effet le rayonnement gamma émis ne sera pas influencé ni par la matrice de silice ni par le type de solvant. C'est donc une méthode directe d'analyse qui ne nécessite ni la destruction de l'échantillon, ni une étape de préparation pouvant induire des incertitudes expérimentales. En revanche l'utilisation d'objets radioactifs impose certaines limitations et précautions particulières, notamment au niveau de la dose radioactive émise. C'est pourquoi seulement une partie des ligands sera complexée par des atomes d'euporium radioactifs. Le même protocole présenté précédemment a donc été utilisé, mais les ligands ont été complexés avec un mélange d'euporium actif et inactif. La source d'euporium(152) est une solution de 1 mL d' $\text{EuCl}_3(\text{H}_2\text{O})_6$ à 10 $\mu\text{g/mL}$. Le rapport molaire d'euporium actif et inactif de cette solution est égal à $4,6 \cdot 10^{-5}$. L'activité de la solution en complexe introduite pour chaque synthèse (80 μL à 10^{-02} M) représente environ $2,5 \cdot 10^{-02}$ GBq (*i.e.* 1 Becquerel correspond à une désintégration par seconde). Le ligand $\text{H}_3\text{ebpatchn}$ a été également complexé avec le même mélange. En effet, le terbium avait précédemment été utilisé avec ce ligand du fait du bon rendement quantique du complexe $[\text{Tb}(\text{ebpatchn})]$. Les propriétés de luminescence n'étant pas utiles dans cette partie et comme nous ne disposons pas de source radioactive de terbium, la quantification de l'incorporation a été réalisée avec le complexe $[\text{Eu}(\text{ebpatchn})]$. Nous avons admis que le fait de remplacer du terbium par l'euporium ne modifierait pas le mécanisme d'incorporation, qui est avant tout dépendant de la nature du ligand. Une première série d'incorporation de $[\text{Eu}(\text{ebpatchn})]$ dans des billes de 50 nm a été effectuée afin de vérifier la pertinence de ce système de quantification. L'organolanthanide radioactif $[\text{Eu}(\text{ebpatchn})]$ a ainsi été incorporé dans des billes de silice de 50 nm en suivant les mêmes protocoles de synthèse et de lavage présentés précédemment. Pour rappel, la microémulsion est déstabilisée par un ajout d'acétone et la silice est récupérée par centrifugation. Le surnageant récupéré est appelé 1^{er} lavage. Le culot de silice est ensuite redispersé aux ultrasons dans de l'éthanol et centrifugé. Le surnageant récupéré correspond alors au 2^{ème} lavage. Ainsi la silice sera successivement lavée encore deux fois à l'éthanol (3^{ème} et 4^{ème} lavage) et une fois à l'eau (5^{ème} lavage). La silice redispersée dans l'eau est alors dialysée dans l'eau. L'activité

¹ Article « *Radioactive Europium Chelates-Based Silica Nanoparticles as Probe for Stability, Incorporation Efficiency and Trace Analysis* » N. Wartenberg, O. Raccurt, E. Bourgeat-Lami, M. Mazzanti, D. Imbert. Soumis dans Eur. J. Inorg. Chem.

des différents surnageants, des eaux de dialyse, de la membrane de dialyse (vide) ainsi que la solution colloïdale de silice finale est enregistré en nombre de coups/min par un compteur gamma. Le suivi des pertes de complexe au cours des différentes étapes de lavage est quantifié en calculant le pourcentage représenté par l'activité de la solution analysée par rapport à l'activité totale introduite initialement (en coups/min). Trois synthèses ont ainsi été caractérisées afin de vérifier la reproductibilité de cette méthode. Les résultats sont présentés au Tableau 8.

Tableau 8 Répartition des pertes en [Eu(ebpatchn)] lors de leur incorporation dans des particules de silice en microémulsion stabilisée par le système Triton X-100/Hexanol/Cyclohexane. L'activité de chaque échantillon est calculée en pourcent par rapport à l'activité totale introduite.

Echantillon analysé	Activité gamma (%)		
1er lavage (Acétone)	2,5	2,2	1,8
2e lavage (Ethanol)	18,4	17	19,2
3e lavage (Ethanol)	8,0	8,4	7,8
4e lavage (Ethanol)	9,1	9,0	8,9
5e lavage (eau)	11,3	11,2	10,1
Eau de dialyse	5,5	6,8	6,2
Membrane de dialyse	11,2	23,6	18,9
Echantillon final	33,0	20,1	25,2
Total compté	99	98,3	98,1

Dans les trois cas, la somme des activités comptées dans les différents échantillons correspond quasiment à l'activité de la solution d'[Eu(ebpatchn)] introduite initialement. Ceci indique que très peu de pertes interviennent lors de la quantification et que nous avons donc réussi à identifier la répartition des ions Eu(152) (et donc des complexes) au cours des différentes étapes de lavage avec moins de 2% d'erreur globale sur cette série. Cependant des écarts de plus de 10 % sont observés sur l'échantillon final, c'est à dire sur le rendement final d'incorporation. Ces écarts proviennent de la membrane de dialyse où les activités comptées ne sont clairement pas reproductibles. L'activité résiduelle de ces membranes a été mesurée après avoir vidé la solution colloïdale dialysée pendant une semaine, et correspond donc probablement à des particules de silice adsorbées sur la membrane. On observe que non seulement cela induit des variations très importantes, mais également que cette perte est très importante (supérieure à la quantité de complexe désorbée pendant la dialyse). Même en rinçant la membrane de dialyse à l'eau, à peine 10 % de la quantité adsorbée a pu être récupérée. C'est pourquoi nous avons décidé de remplacer cette étape de dialyse par un lavage à l'eau supplémentaire. Les étapes de lavage par centrifugation étant plus reproductibles, il devrait être possible d'avoir une valeur plus précise de la concentration en organolanthanides dans l'échantillon final.

Les valeurs obtenues par cette méthode sont par ailleurs bien plus élevées que celles qui ont été obtenues initialement par ICPMS, même lorsque la silice est dissoute par un traitement à l'acide fluorhydrique. L'étape de dialyse ne suffit pas à expliquer un tel écart. Il semble donc que les problèmes rencontrés en début de thèse lors de la quantification par ICPMS étaient plus dues à la qualité des échantillons qu'à un problème de méthode de quantification.

4.2.2 Cas du système quaternaire

Le protocole de lavage comprend donc à présent, un lavage à l'acétone, trois lavages à l'éthanol et deux lavages à l'eau. Les particules finales sont dispersées dans l'eau. L'incorporation des complexes actifs de [Eu(tpatcn)] et d'[Eu(ebpatcn)] a ainsi été étudiée suivant ce protocole de lavage (le protocole de synthèse reste en revanche le même). L'activité de chaque surnageant et celle de la solution finale est enregistrée. A partir de l'activité de la solution de complexe initialement introduite, il est ainsi possible de quantifier les pertes et leur répartition au cours du procédé de récupération et de lavage des billes de silice. Les résultats sont résumés au Tableau 9 et à la Figure 43.

Tableau 9 Répartition des pertes en complexe lors de leur incorporation dans des particules de silices obtenues en microémulsion inverse stabilisée par le système Triton X-100/Hexanol/Cyclohexane. L'activité de chaque échantillon est calculée en pourcent par rapport à l'activité totale introduite.

	Activité [Eu(ebpatcn)] (%)	Activité [Eu(tpatcn)] (%)
1 ^{er} (acetone)	3,9 ± 1,2	31,5 ± 8,8
2 ^e (éthanol)	23,8 ± 3,0	47,3 ± 8,1
3 ^e (éthanol)	9,8 ± 0,7	8,0 ± 1,0
4 ^e (éthanol)	9,6 ± 0,8	3,6 ± 0,5
5 ^e (eau)	11,5 ± 0,6	2,9 ± 1,1
6 ^e (eau)	7,5 ± 4,0	1,3 ± 0,7
Echantillon final	33,2 ± 2,3	4,9 ± 0,7
Activité totale comptée	99,2 ± 1,4	99,5 ± 0,4

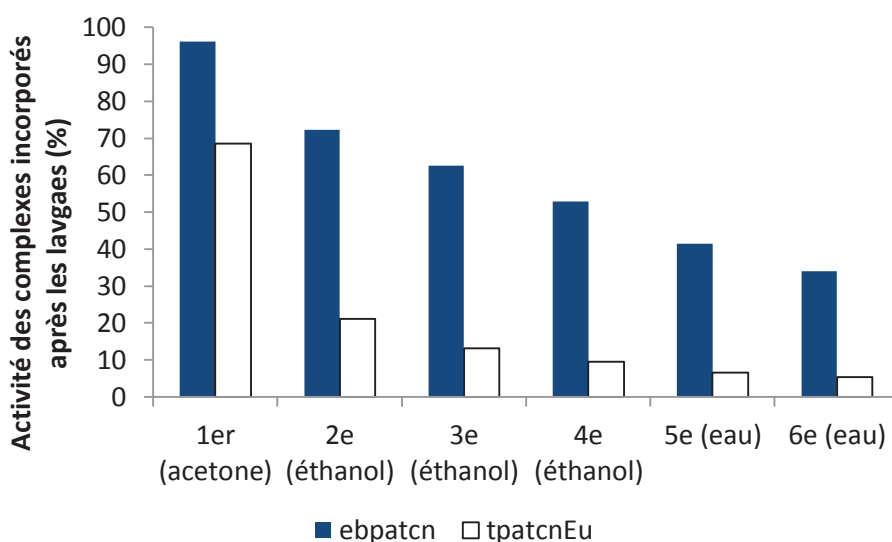


Figure 43 Evolution de l'activité gamma des nanoparticules récupérées après chaque lavage pour le système Triton X-100/Hexanol/Cyclohexane.

La somme des activités comptées dans les différentes solutions est quasiment égale à celle introduite, indiquant qu'il n'y a pas de perte pendant la quantification. Ce procédé de récupération et de lavage des nanoparticules de silice semble de plus reproductible, comme en atteste les faibles écarts observés dans chaque cas (Tableau 9). La Figure 43 représente la diminution de l'activité des

billes de silice au cours des différents lavages. Le comportement des deux complexes s'avère très différent. Comme on pouvait s'y attendre, les pertes du complexe [Eu(tpatcn)], hydrophobe, sont bien plus importantes que celles de [Eu(ebpatcn)] qui est plus hydrophile. En effet les images STEM en mode HAADF avaient déjà mis en évidence que la différence d'hydrophilicité entre les deux complexes entraînait une localisation en surface pour l'[Eu(tpatcn)], et en volume pour [Eu(ebpatcn)]. Les résultats obtenus ici confirment donc ces précédentes observations. L'activité finale présentée ici permet de connaître la concentration finale en complexe dans les nanoparticules de silice après ce procédé spécifique de récupération/lavage. Néanmoins, cette première quantification n'est pas suffisante pour caractériser complètement l'incorporation des complexes. En effet comme cela a été abordé précédemment toutes les particules de silice ne sont pas récupérées lors de la centrifugation. Une partie des pertes de complexe n'est donc pas due au mécanisme d'incorporation mais aux limitations de la centrifugeuse. Il est donc nécessaire de différencier la part de complexe libre en solution qui résulte de leur désorption, et celle imputable aux particules présentes dans le surnageant. En effet l'évolution de l'activité présentée à la Figure 46 diminue continuellement tout au long du lavage, semblant indiquer un relargage permanent des complexes. Or si les complexes étaient effectivement piégés à l'intérieur de la matrice de silice, les pertes devraient être inexistantes après l'élimination des complexes adsorbés/faiblement liés. On observe effectivement que la majorité des pertes intervient lors des deux premiers lavages. Cependant des quantités non négligeables sont perdues jusqu'à la dernière étape de lavage. Afin d'identifier l'origine de cette perte, les surnageants ont été filtrés à l'aide d'un vivaspinn (*i.e.* tube de centrifugation équipé d'une membrane de dialyse séparant deux compartiments) par centrifugation (MWCO = 5000 Da, 6500 rpm, 15 minutes) (le premier lavage n'est pas filtré du fait de la présence importante de tensioactif et de l'incompatibilité chimique entre le tube et l'acétone). Ainsi nous avons pu estimer la composition des surnageants et faire la part entre les complexes en solution et ceux incorporés dans les particules de silice qui n'ont pas pu être séparées par centrifugation. La composition de chaque surnageant est ainsi résumée au Tableau 10, à la Figure 44 et à la Figure 45 pour l'[Eu(ebpatcn)] et l'[Eu(tpatcn)] respectivement.

Tableau 10 Composition des surnageants récupérés au cours des différents lavages pour le système Triton X-100/Hexanol/Cyclohexane : Une partie de l'activité provient des complexes libres (en solution) qui ont désorbés lors du lavage et l'autre partie est attribuable à des particules de silice n'ayant pas été récupérées par centrifugation.

	Activité [Eu(ebpatcn)] (%)		Activité [Eu(tpatcn)] (%)	
	<i>libre</i>	<i>incorporé</i>	<i>libre</i>	<i>incorporé</i>
1 ^{er} (acetone)		3,9		31,5
2 ^e (éthanol)	20,6	3,2	46,1	1,3
3 ^e (éthanol)	4,0	5,7	6,7	1,4
4 ^e (éthanol)	1,4	8,3	2,0	1,6
5 ^e (eau)	2,7	8,8	0,9	2,0
6 ^e (eau)	0,5	7,0	0,3	1,0

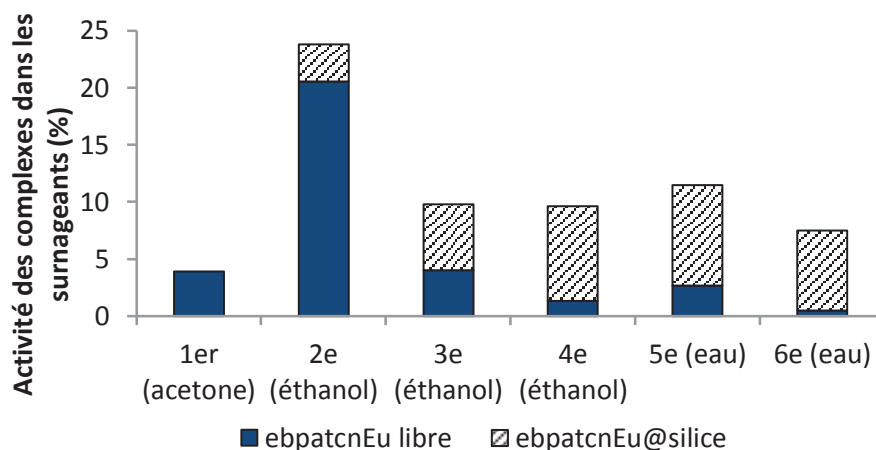


Figure 44 Composition des surnageants dans le cas de [Eu(ebpatcn)] et du système Triton X-100/Hexanol/Cyclohexane. Répartition entre les pertes en particules de silice et en complexe libre.

Dans le cas de l'[Eu(ebpatcn)] (Figure 44) la majeure partie du complexe est désorbée lors du premier lavage à l'éthanol. En effet, la faible affinité du complexe pour l'acétone n'entraîne quasiment pas de désorption, même pour les complexes les plus faiblement liés. En revanche l'éthanol étant un meilleur solvant, les complexes adsorbés à la surface des particules sont éliminés efficacement. En effet, pour les lavages suivants, la perte enregistrée est essentiellement due à la présence de nanoparticules dans les surnageants. On peut néanmoins noter une petite augmentation de la proportion de complexe désorbé lorsque l'éthanol est remplacé par l'eau, du fait d'une affinité plus importante du complexe pour le solvant. La composition du dernier surnageant montre bien que ce protocole de lavage permet d'éliminer efficacement tous les complexes faiblement liés à la particule de silice. De plus, cela prouve que la quantité de complexe restante est bien piégée à l'intérieur des particules de silice.

Pour confirmer la stabilité de cette incorporation sans liaison covalente, différents prélèvements de l'échantillon final ont été effectués au cours du temps et filtrés par centrifugation (MWCO=5 kD, 6500 rpm, 15 minutes). A partir de l'activité des filtrats récupérés (phase aqueuse sans particule), il est alors possible de quantifier le pourcentage de complexe libre par rapport à la quantité incorporée dans l'échantillon après le procédé de lavage. La Figure 46 montre que l'activité n'évolue pas sensiblement sur deux mois. L'incorporation de l'[Eu(ebpatcn)] dans des nanoparticules de silice est donc stable sur au moins deux mois. L'activité des filtrats, même si elle semble stable, n'est cependant pas strictement nulle. Ce phénomène peut s'expliquer par l'étape de filtration par centrifugation, plus agressive, et qui entraîne la désorption des derniers complexes encore présents après le dernier lavage.

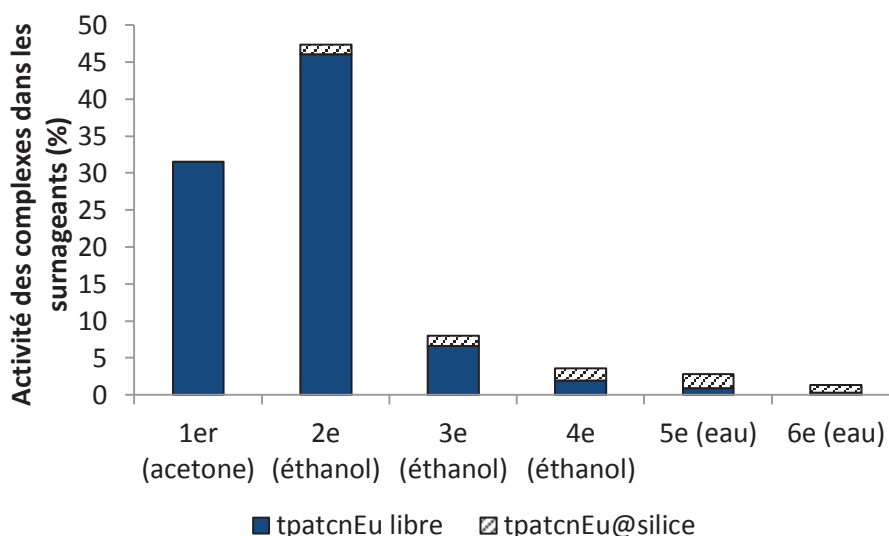


Figure 45 Composition des surnageants dans le cas de [Eu(tpatcn)] et du système Triton X-100/Hexanol/Cyclohexane. Répartition entre les pertes en particules de silice et en complexe libre.

Dans le cas de l'[Eu(tpatcn)] plus de 75 % de l'activité totale est perdue lors des deux premiers lavages (Figure 45 et Tableau 10). Contrairement à l'[Eu(ebpatcn)] une grande partie est perdue dès le premier lavage à l'acétone. Ceci indique vraisemblablement qu'une grande partie de [Eu(tpatcn)] n'est même pas adsorbé à la surface de la silice. Ce résultat est en accord avec les précédentes observations faites en microscopie. En effet, étant donné le positionnement en surface de l'[Eu(tpatcn)], il est probable que les complexes soient localisés à l'interface des gouttelettes d'eau et du cyclohexane pendant la croissance de la silice. Ainsi il semble qu'une grande partie du complexe introduit soit en excès et libre dès l'étape de synthèse en microémulsion. Ensuite, comme précédemment observé pour [Eu(ebpatcn)], un important phénomène de désorption est observé au premier lavage à l'éthanol. La perte de complexe à cette étape est plus importante que celle observée pour l'[Eu(ebpatcn)]. En effet [Eu(tpatcn)] étant essentiellement localisée en surface, il est vraisemblable qu'une plus grande proportion de complexe soit simplement adsorbé et non piégé à l'intérieur des pores de la silice. La désorption des complexes se poursuit ensuite continuellement au cours des différentes étapes de lavage. En revanche contrairement à l'[Eu(ebpatcn)], cette perte ne semble pas être majoritairement due à la présence de particules de silice dans les surnageants. Cette perte continue semble donc indiquer une désorption progressive et plus lente que celle observée pour l'[Eu(ebpatcn)]. [Eu(tpatcn)] étant plus hydrophobe que le [Eu(ebpatcn)], il possède une affinité plus faible pour les solvants utilisés dans le protocole de lavage et est donc désorbé plus difficilement. Il semble donc que la désorption de la totalité des complexes non piégés soit plus longue, comme le montre la Figure 46 où la désorption semble se poursuivre. En effet une précédente étude a montré que le [Eu(tpatcn)] ne diffusait pas à l'extérieur des nanoparticules de silice une fois correctement lavées (dialyse dans ce cas) [91]. L'évolution de l'activité dans les filtrats observée provient donc vraisemblablement d'un mécanisme de désorption et non d'une diffusion des complexes incorporés à l'extérieur des particules. De plus, comme cela a déjà été mentionné, la méthode de filtration par centrifugation est plus agressive qu'un lavage par dialyse et peu donc entraîner une désorption supplémentaire qui n'est pas observée avec la dialyse. Ceci peut être corrélé avec le fait que le [Eu(tpatcn)] ayant moins d'affinité pour l'eau, il est plus difficilement

désorbé comme cela a déjà été discuté. Enfin le pourcentage de l'activité dans le sérum est calculé à partir de la concentration en complexe dans l'échantillon final, qui est très faible dans ce cas, la sensibilité de la mesure est donc moins bonne que pour le [Eu(ebpatcn)]. Quoiqu'il en soit, il est clair que la méthode de récupération/lavage des billes de silice influence fortement l'incorporation non covalente, de même que les propriétés physico-chimiques des complexes.

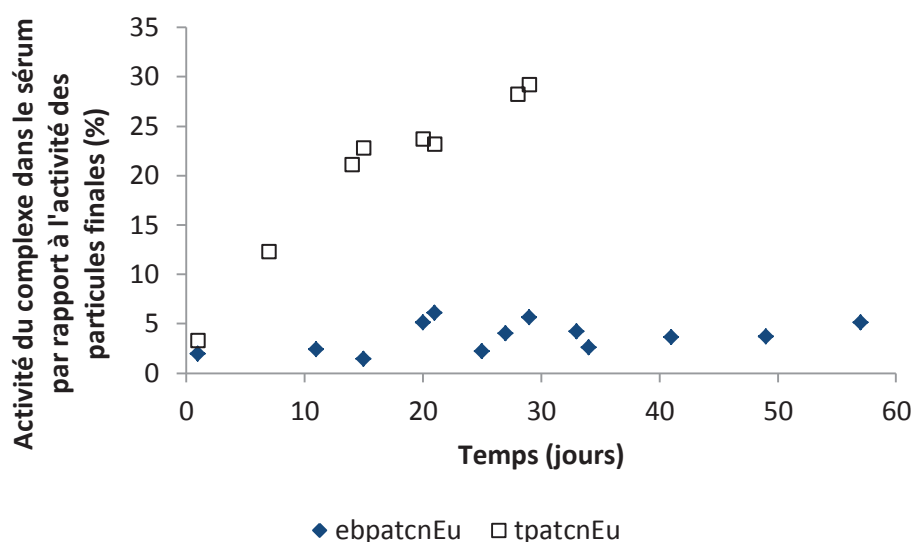


Figure 46 Evolution de l'activité des filtrats (i.e. sérum, phase aqueuse sans particule) récupérés par centrifugation sur Vivaspin (MWCO=5 kD) au cours du temps. Le pourcentage représente le rapport entre l'activité du sérum et celle de l'échantillon final (après le protocole de lavage) comptée précédemment.

Le pourcentage de complexes incorporés dans l'échantillon final mesuré ne prend pas en compte le fait qu'une partie des pertes est due à des nanoparticules de silice non récupérées par centrifugation. Ainsi cette valeur ne peut pas être définie comme l'efficacité « réelle » de l'incorporation. En effet elle correspond plutôt à l'efficacité de l'incorporation suivant ce protocole spécifique de récupération, qui dépend du temps et de la vitesse de centrifugation. C'est pourquoi l'efficacité « réelle » de l'incorporation a été estimée en considérant que toutes les particules de silice sont récupérées. Pour cela il faut aussi estimer la quantité de complexe qui aurait été désorbée de ces particules perdues si elles avaient subi les étapes de lavage suivantes. Ainsi une valeur corrigée a été calculée. Sur la quantité de complexes incorporés perdue au lavage n (Tableau 10, perte due aux nanoparticules présentes dans le surnageant), une partie correspondante à la perte en complexe libre au lavage $n+1$ doit être retranchée. Prenons par exemple l'activité correspondante à la perte en particules dans le deuxième surnageant. Si on considère que ces particules ne sont pas perdues pendant la centrifugation, une partie des complexes va se désorber pendant le lavage 3. Il faut donc en tenir compte et retrancher cette perte à l'activité des particules perdues dans le surnageant au lavage 2. Cette perte peut être estimée à partir du pourcentage en complexe libre dans le surnageant 3 (Tableau 10). Une activité corrigée correspondante à la quantité de silice perdue au lavage 2 ayant subi le lavage 3 est ainsi estimée. En répétant la même procédure jusqu'au dernier lavage il est ainsi possible d'estimer la quantité de complexes supplémentaires qui pourrait être récupérée s'il n'y avait pas eu de pertes de particules pendant la centrifugation. Les valeurs corrigées des pertes en silice lors de la centrifugation sont ainsi calculées pour chaque surnageant. La somme de ces pertes de particules corrigées plus l'activité de l'échantillon final donne l'efficacité « réelle » de l'incorporation. Les résultats sont résumés au Tableau 11.

Tableau 11 Répartition des pertes en complexe lors de leur incorporation dans des particules de silice obtenues en microémulsion inverse stabilisée par le système Igepal CO-520/Cyclohexane. L'activité de chaque échantillon est calculée en pourcent par rapport à l'activité totale introduite.

	[Eu(ebpatcn)]	[Eu(tpatcn)]
Activité de l'échantillon final après le protocole de lavage (%)	33,2	4,9
Total des pertes en particules dans les surnageants (%)	31,0	7,3
Total des pertes en particules corrigé (%)	26,5	7,1
Efficacité de l'incorporation (%)	59,7	12,0

Si les particules de silice étaient entièrement récupérées par centrifugation, nous avons estimé que respectivement 59,7% et 12,0% de la quantité introduite en [Eu(ebpatcn)] et en [Eu(tpatcn)] était effectivement incorporée. L'efficacité de l'incorporation en [Eu(ebpatcn)] est tout à fait remarquable pour un greffage non covalent. Ces résultats soulignent aussi l'importance de la méthode de récupération. Une solution simple pour limiter la perte en organolanthanide consisterait à utiliser une ultracentrifugeuse pour récupérer plus efficacement les particules.

4.2.3 Cas de la microémulsion ternaire

La même étude a été effectuée pour le système ternaire Igepal CO-520/Cyclohexane/Eau. Les protocoles de synthèse et de lavage sont identiques à ceux présentés précédemment. L'activité de chaque surnageant et celle de la solution finale ont été enregistrés. A partir de l'activité de la solution de complexe initialement introduite, il est ainsi possible de quantifier les pertes et leur répartition au cours du procédé de récupération et de lavage des billes de silice. Les résultats sont résumés au Tableau 12 et à la Figure 50.

Tableau 12 Répartition des pertes en complexe lors de leur incorporation dans des particules de silice obtenues par microémulsion inverse stabilisée par le système Igepal CO-520/Cyclohexane. L'activité de chaque échantillon est calculée en pourcent par rapport à l'activité totale introduite.

	Activité [Eu(ebpatcn)] (%)	Activité [Eu(tpatcn)] (%)
1 st (acetone)	1,2 ± 0,4	5,8 ± 1,0
2 nd (ethanol)	39,7 ± 2,4	65,1 ± 1,0
3 rd (ethanol)	14,5 ± 1,4	16,6 ± 1,4
4 th (ethanol)	9,9 ± 4,5	6,4 ± 0,1
5 th (eau)	11,4 ± 0,8	4,8 ± 0,6
6 th (eau)	6,3 ± 1,5	1,2 ± 0,2
Echantillon final	15,5 ± 2,2	1,9 ± 0,2
Activité totale/comptée	98,5 ± 2,1	99,8 ± 1,6

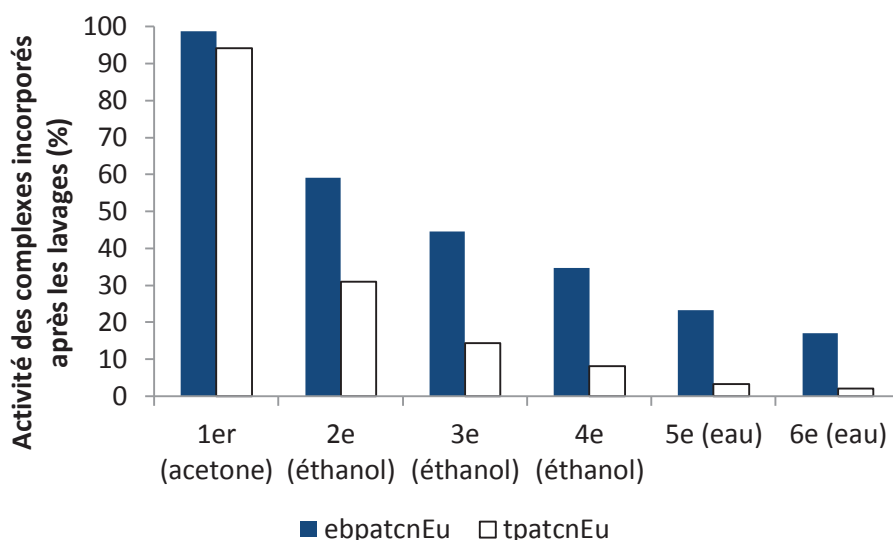


Figure 47 Evolution de l'activité gamma des nanoparticules récupérées après chaque lavage pour le système Igepal CO-520/Cyclohexane.

De même que pour les billes de 50 nm, la somme des activités comptées dans les différentes solutions est quasiment égale à celle introduite, indiquant qu'il n'y a pas de perte pendant la quantification. Ce procédé de récupération et de lavage des nanoparticules de silice semble de plus reproductible comme en atteste les faibles écarts observés dans chaque cas (Tableau 12). La Figure 47 représente la diminution de l'activité des billes de silice au cours des différents lavages. Une fois encore le comportement des deux complexes s'avère très différent. D'autre part, l'incorporation semble être moins importante dans les billes de 15 nm que dans les billes de 50 nm. On ne peut cependant pas directement comparer ces deux systèmes étant donné que des masses de silice différentes sont récupérées après le protocole de lavage (environ deux fois moins de matière récupérée pour les plus petites billes). L'évolution de l'activité des particules au cours des différents lavages est similaire à celle observée pour les billes de 50 nm. Cependant comme cela a été expliqué au paragraphe précédent, il faut estimer l'origine de cette perte pour s'assurer qu'une partie des complexes est bien incorporée dans les billes de 15 nm. Ainsi les surnageants ont été filtrés par centrifugation de la même manière que précédemment pour estimer la quantité de nanoparticules non récupérées lors de la centrifugation. La composition de chaque surnageant (à l'exception du premier à l'acétone) est résumé au Tableau 13, à la Figure 48 et à la Figure 49 pour l'[Eu(ebpatcn)] et l'[Eu(tpatcn)] respectivement.

Tableau 13 Composition des surnageants récupérés lors de l'incorporation par le système Igepal CO-520/Cyclohexane : Une partie de l'activité est induite par des complexes libres (en solution) qui sont désorbés lors du lavage et l'autre partie est attribuable à des particules de silice n'ayant pas été récupérées par centrifugation.

	Activité [Eu(ebpatcn)] (%)		Activité [Eu(tpatcn)] (%)	
	<i>libre</i>	<i>incorporé</i>	<i>libre</i>	<i>incorporé</i>
1 ^{er} (acetone)	1,2		5,8	
2 ^e (éthanol)	36,9	2,9	63,0	2,1
3 ^e (éthanol)	10,0	4,5	14,9	1,7
4 ^e (éthanol)	3,6	6,3	5,5	0,9
5 ^e (eau)	5,4	6,0	3,5	1,3
6 ^e (eau)	0,9	5,4	0,3	0,9

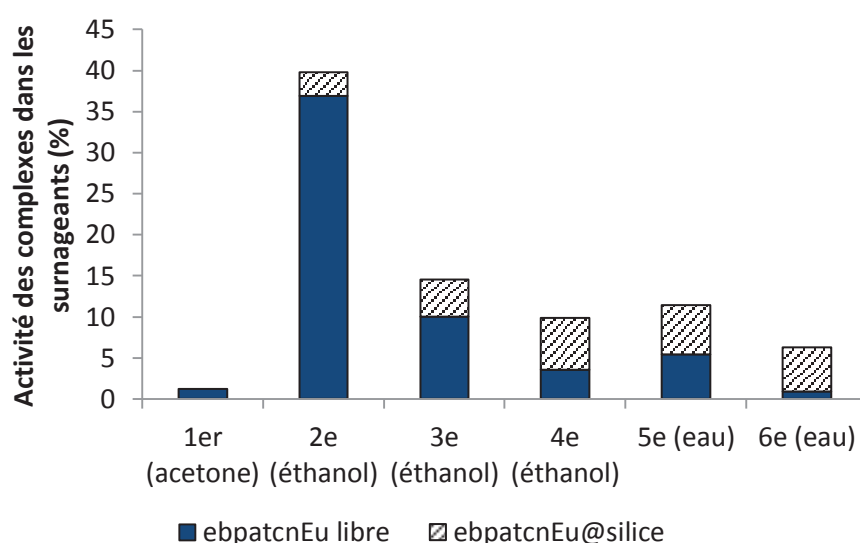


Figure 48 Composition des surnageants dans le cas de [Eu(ebpatcn)] et du système Igepal CO-520/Cyclohexane. Différenciation entre les pertes en particules de silice et en complexe libre.

Dans le cas de [Eu(ebpatcn)] (Figure 48 Composition des surnageants dans le cas de [Eu(ebpatcn)] et du système Igepal CO-520/Cyclohexane. Différenciation entre les pertes en particules de silice et en complexe libre. Figure 48), l'évolution des pertes dans les surnageants et leur composition sont très similaires à celles observées pour le système Triton X-100/Hexanol/Cyclohexane. Une désorption plus importante est cependant mesurée lors du deuxième et du troisième lavage. Cela peut s'expliquer par le fait que comme la surface développée par les nanoparticules de 15 nm est plus importante que celle des particules de 50 nm, une quantité plus importante de complexe est adsorbée en surface. Cela dit après le troisième lavage, la majorité des pertes est attribuable aux nanoparticules présentes dans les surnageants. Comme pour les billes de 50 nm, une légère augmentation de la quantité de complexe désorbée est également observée quand on remplace l'éthanol par l'eau (5^e lavage). La quasi-totalité de l'activité du dernier lavage provient de la présence de nanoparticules dans le surnageant, indiquant que le protocole de lavage a permis d'éliminer efficacement les complexes non incorporés et simplement adsorbés. La Figure 50 montre que l'activité n'évolue pas sensiblement au cours du temps, comme cela avait été observé pour les particules de 50 nm. L'incorporation sans liaison covalente de l'[Eu(ebpatcn)] dans des nanoparticules de silice de 15 nm

semble donc également stable. L'activité des filtrats n'est pas strictement nulle dans ce cas non plus. Les valeurs étant similaires entre les deux tailles de bille, cela semble confirmer que la filtration par centrifugation est une méthode plus agressive qui entraîne la désorption des derniers complexes encore présents après le dernier lavage.

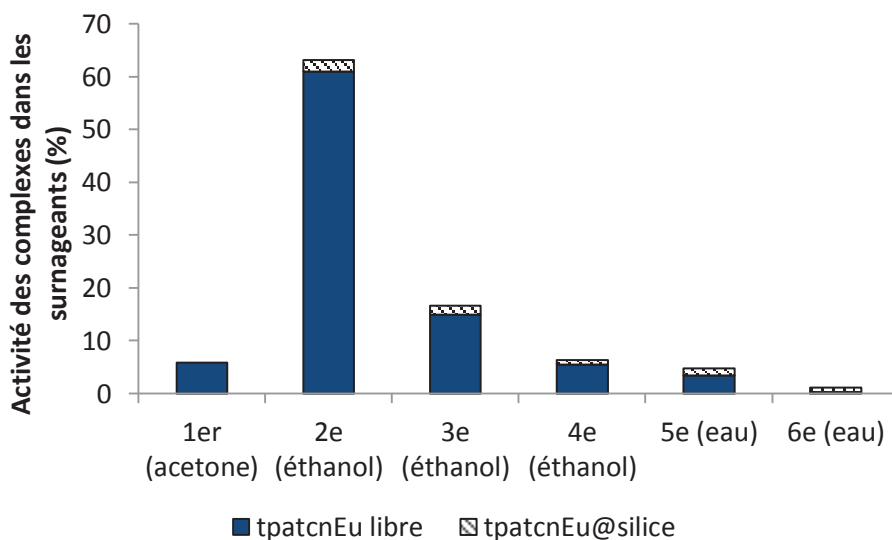


Figure 49 Composition des surnageants dans le cas de [Eu(tpatcn)] et du système Igepal CO-520/Cyclohexane. Différenciation entre les pertes en particules de silice et en complexe libre.

Comme cela avait été observé pour les billes de 50 nm, dans le cas de [Eu(tpatcn)], la proportion de complexe désorbé (libre) est plus importante que pour le complexe plus hydrophile (Figure 49). En revanche la quantité de complexe perdu au premier lavage est bien moins importante pour les billes de 15 nm que pour celle de 50 nm. Ceci peut s'expliquer par le fait que l'interface développée par les billes de 15 nm est plus importante que pour celles de 50 nm. Il est donc probable qu'une plus grande quantité de [Eu(tpatcn)] soit adsorbée et donc retenue lors de ce premier lavage. En revanche, ces complexes faiblement liés à la silice ne résistent pas au second lavage à l'éthanol où environ 60 % de l'activité totale est perdue. La désorption des complexes se poursuit ensuite continuellement au cours des différentes étapes de lavage. Comme cela avait été observé pour les billes de 50 nm, cette perte n'est pas majoritairement due à la présence de particules de silice dans les surnageants. Il semble donc également que du fait de la moins bonne affinité pour les solvants utilisés dans le protocole de lavage, la désorption de la totalité de [Eu(tpatcn)] soit plus longue. La désorption des complexes semble cependant plus efficace que pour les particules de 50 nm. En effet l'évolution au cours du temps de l'activité dans le sérum (Figure 50) est similaire à celle observée pour [Eu(ebpatcn)], indiquant que quasiment tous les complexes [Eu(tpatcn)] adsorbés ont bien été éliminés pendant le procédé de lavage.

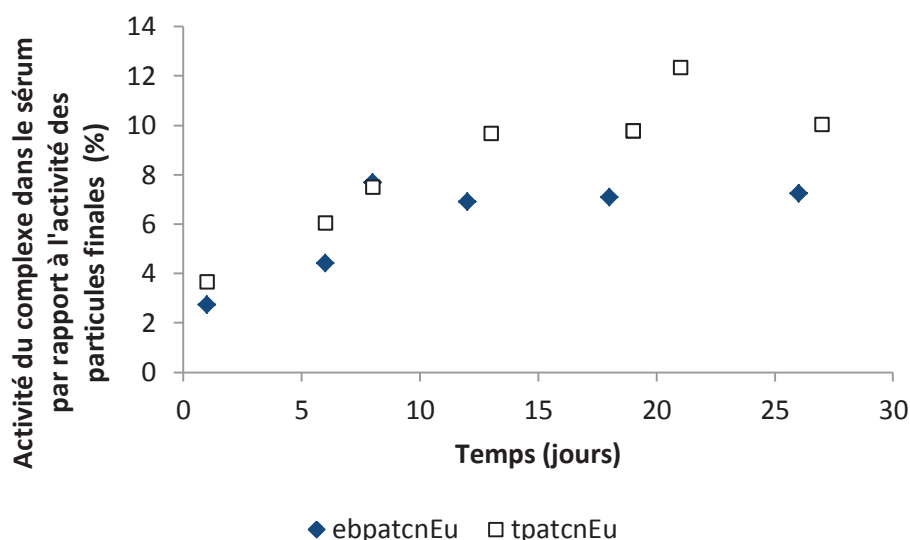


Figure 50 Evolution de l'activité des filtrats (i.e. sérum, phase aqueuse sans particule) récupérés par centrifugation sur Vivaspın (MWCO=5 kD) au cours du temps. Le pourcentage représente le rapport entre l'activité du sérum et celle de l'échantillon final (après le protocole de lavage) comptée précédemment.

L'efficacité « réelle » de l'incorporation des complexes [Eu(tpatcn)] et [Eu(ebpatcn)] dans des nanoparticules de silice de 15 nm a été estimée comme précédemment. Les rendements qui auraient dû être atteints si toutes les particules de silice avaient été récupérées par centrifugation sont présentés au Tableau 14.

Tableau 14 Estimation de l'efficacité « réelle » de l'incorporation de [Eu(tpatcn)] et [Eu(ebpatcn)] pour le système Igepal CO-520/Cyclohexane.

	[Eu(ebpatcn)]	[Eu(tpatcn)]
Activité de l'échantillon final après le protocole de lavage (%)	15,5	1,9
Total des pertes en particules dans les surnageants (%)	27,8	6,9
Total des pertes en particules corrigé (%)	25,0	6,7
Efficacité de l'incorporation (%)	40,5	8,6

Les efficacités d'incorporation pour les deux complexes s'avèrent un peu plus faibles que celles obtenues pour les nanoparticules de silice de 50 nm. Ceci s'explique probablement par l'interface plus importante développée par les particules de 15 nm. On peut alors penser que dans ce cas, un peu plus de complexe est adsorbé ou situé très proche de la surface et donc plus faiblement lié à la silice.

4.3 Comparaison des deux méthodes de quantification

Les quantités incorporées varient sensiblement entre la méthode radioactive et l'ICPMS. Cela ne semble pas être dû à la matrice de silice puisque même après sa dissolution par une solution d'HF, la valeur trouvée par ICPMS est environ trois fois plus faible que celle déterminée par la méthode radioactive. Le protocole de récupération/lavage a certes légèrement été modifié et nous avons vu que les pertes sur la membrane de dialyse pouvait conduire à des écarts importants. Cependant ces déviations ne semblent pas suffisantes pour expliquer une telle différence. Il est donc probable que les problèmes rencontrés lors des premières analyses viennent de la qualité des échantillons, et non de la méthode de quantification par ICPMS. En effet ces analyses ont été effectuées en tout début de thèse, et il est possible que les méthodes de synthèse n'étaient alors pas totalement maîtrisées, en particulier l'étape de récupération. Afin de s'en assurer, nous avons caractérisé une nouvelle série d'échantillons préparés suivant la même méthode que celle utilisée pour le traçage radioactif par ICPMS. Les échantillons analysés ont été préparés à partir des solutions colloïdales finales et acidifiés par HNO_3 avant d'être injectés. Le Tableau 15 résume les résultats obtenus par ICPMS et par dosage radioactif pour cette nouvelle série d'échantillons.

Tableau 15 Comparaison des mesures de l'efficacité d'incorporation déterminées par ICPMS et par comptage radioactif

	TX-100/Hexanol/Cyclohexane		Igepal CO-520/Cyclohexane	
	[Eu(tpatcn)]	[Tb(ebpatcn)]	[Eu(tpatcn)]	[Tb(ebpatcn)]
Radioactif	4,9 %	33,2 %	1,9 %	15,5 %
ICPMS	5,3 %	40,0 %	2,4 %	16,0 %

Les valeurs obtenues par ICPMS sont cette fois ci bien plus cohérentes et comparables à celles déterminées par comptage gamma. Contrairement à ce que nous pensions au début, la quantification du taux d'incorporation dans des nanoparticules de silice peut être effectuée par ICPMS : la matrice de silice est bien détruite par la torche plasma. Ceci confirme que les résultats obtenus en début de thèse étaient faux, probablement à cause de la qualité des échantillons. Cette différence peut être imputée soit à une mauvaise préparation des échantillons, soit à une mauvaise maîtrise du procédé de récupération en début de thèse. Cependant ces analyses (radioactives et ICPMS) sont bien reproductibles et montrent des résultats cohérents ce qui permet de considérer les valeurs du Tableau 15 comme fiables. Cela dit, étant donné le peu d'exemple détaillant l'utilisation de l'ICPMS pour la caractérisation de tels systèmes, il était important de pouvoir confirmer la validité des résultats obtenus par ICPMS avec une méthode alternative. D'autant plus qu'à l'inverse, de nombreuses études traitent des difficultés liées à la caractérisation de nanoparticules par ICPMS. Le bon accord entre les valeurs obtenues permet ainsi de valider la pertinence des deux techniques d'analyse.

4.4 Conclusion

L'étude de l'incorporation par comptage de l'activité gamma a permis non seulement de quantifier précisément la proportion de complexe effectivement piégé à l'intérieur des billes de silice, mais également d'estimer l'influence du protocole de récupération/lavage des nanoparticules. Que ce soit pour les billes de 15 ou de 50 nm, le complexe [Eu(ebpatcn)] présente une efficacité d'incorporation bien plus importante que pour l'[Eu(tpatcn)]. L'écart mesuré s'explique par le fait que le [Eu(ebpatcn)] est plus hydrophile que le [Eu(tpatcn)]. En effet comme cela avait été révélé par les précédentes caractérisations en microscopie, cette différence d'hydrophilicité induit une localisation différente du complexe au sein des particules. Dans le cas de l'[Eu(ebpatcn)], le complexe est réparti de manière homogène dans les particules. Une proportion très importante du complexe introduit est donc efficacement confinée à l'intérieur du réseau de silice. En revanche le [Eu(tpatcn)] est majoritairement localisé en surface, ce qui explique qu'une très grande partie de ces complexes soit simplement adsorbée à la surface des particules de silice. Ces derniers n'étant pas suffisamment enfouis dans la silice, ils sont progressivement désorbés au fur et à mesure des lavages. L'étude a par ailleurs mis en évidence que du fait d'une affinité moins importante pour les solvants polaires utilisés lors des lavages, la désorption des derniers complexes [Eu(tpatcn)] était plus longue et moins efficace que pour [Eu(ebpatcn)]. Ces phénomènes sont observés pour les deux tailles de particule.

L'analyse des surnageants a également permis de confirmer qu'une partie des pertes en complexe lors du procédé de lavage était due au fait que la centrifugation (aux vitesses testées) ne permet pas de récupérer la totalité des nanoparticules de silice. Il est de plus très clair qu'en plus des propriétés intrinsèques des complexes, le choix du protocole de lavage (nombre de lavage, choix des solvants, dialyse...) influence grandement l'efficacité de l'incorporation finale. Dans cette partie nous nous sommes surtout efforcés d'utiliser un protocole permettant d'obtenir des mécanismes d'incorporation reproductibles permettant une discussion. Certains points peuvent cependant être remis en question, notamment la séparation des complexes libres et incorporés dans les surnageants par filtration par centrifugation. En effet cette méthode de séparation semble induire une nouvelle désorption, particulièrement pour le [Eu(tpatcn)]. C'est pourquoi on peut se demander si la mesure de la composition dans chaque surnageant est rigoureusement représentative de la réalité. Il est possible que la proportion en complexe libre soit légèrement surestimée, spécialement pour le [Eu(tpatcn)]. Ceci souligne qu'en fonction de la méthode de traitement utilisée, les observations peuvent être légèrement différentes.

Néanmoins cette méthode s'est montrée particulièrement fiable et reproductible sur toutes les séries testées. Elle a permis de définir précisément le pourcentage de complexes incorporés pour ce protocole de récupération/lavage, que ce soit dans des billes de 15 ou de 50 nm. Contrairement à l'ICPMS, cette méthode ne nécessite aucune préparation particulière de l'échantillon, qui peut être longue et induire d'éventuelles imprécisions. De plus le comptage gamma permet également de suivre précisément toute l'étape de lavage des billes (ce qui aurait été bien plus difficile par ICPMS du fait de la présence de composés/solvants organiques) et de mettre en évidence son influence sur le taux d'incorporation final. Cependant cette technique est peu répandue dans les laboratoires et difficile à mettre en place contrairement à l'ICPMS, elle ne peut donc pas être généralisée. Cette étude a ainsi également permis de vérifier que l'ICPMS pouvait être utilisé pour quantifier le taux d'incorporation d'organolanthanides dans des nanoparticules de silice amorphes de taille inférieure à

100 nm. Ceci était loin d'être une évidence au vue des nombreuses études traitant des difficultés rencontrées pour caractériser des nanoparticules par ICPMS. Il était donc important de valider cette méthode pour l'analyse de nos particules de silice. Ce travail a donc permis de valider deux techniques de caractérisation. La méthode radioactive qui permet un suivi de toutes les étapes de préparation et fournit des informations précieuses sur les mécanismes d'incorporation. Et la méthode par ICPMS, qui permet de déterminer précisément la composition des particules finales et qui est un instrument bien plus répandu et donc plus facile d'accès.

Le caractère hydrophile/hydrophobe du complexe de lanthanide est donc un paramètre essentiel (en plus de sa solubilité dans l'eau) pour maximiser son incorporation non covalente dans la silice, quelle que soit la taille de la particule. Les résultats obtenus par la méthode radioactive et l'ICPMS sont cohérents avec ceux obtenus en microscopie. La quantification en radioactif a aussi permis de mettre en évidence l'importance de la méthode de récupération et de lavage des nanoparticules. Cette étape doit être contrôlée afin de s'assurer que les complexes ne désorbent plus des particules de silice à la fin du traitement. Cette étude apporte de nouvelles informations utiles sur l'interaction entre les complexes et les solvants de lavage.

5 Fonctionnalisation de la surface des particules de silice

L'introduction de fonctions spécifiques à la surface de la silice permet d'adapter la réactivité et la stabilité des nanoparticules à l'application désirée. Comme cela a été décrit dans le premier chapitre, les groupements chimiques de surface ont une influence directe sur la stabilité colloïdale qui est un paramètre critique dans toutes les applications des nanoparticules. De plus les groupements de surface peuvent servir pour la reconnaissance de sites réactionnels spécifiques, notamment pour des applications de vectorisation en biologie. L'autre objectif est d'étudier s'il est possible d'améliorer l'incorporation des complexes en faisant croître in situ une deuxième couche de silice qui permettrait de piéger un plus grand nombre de molécules luminescentes en servant de barrière à leur désorption.

La forte réactivité des groupements silanols de surface permet de greffer des agents de couplage possédant une fonction silane. De très nombreux agents de couplage sont disponibles ce qui permet d'envisager de nombreuses applications. L'intérêt de cette partie étant avant tout d'étudier l'influence de la méthode de fonctionnalisation sur les propriétés de luminescence, nous nous sommes limités à l'étude de l'aminopropyltriéthoxysilane (APTES). La fonction amine est en effet l'une des plus utilisée pour des applications en biologie et l'APTES est l'agent de couplage communément employé [51, 74, 87].

Différentes techniques ont été décrites pour fonctionnaliser des particules de silice à partir d'agents de couplage silane. On peut en distinguer deux principalement:

- La fonctionnalisation en une étape dans laquelle l'agent de couplage est directement introduit dans le milieu réactionnel [131].
- La fonctionnalisation en deux étapes avec séchage ou sans séchage. Dans ce cas, un traitement préalable est nécessaire avant l'introduction de l'agent de couplage [132, 133]. Cette méthode est généralement utilisée quand le solvant de synthèse n'est pas adapté pour la fonctionnalisation, ou quand les particules nécessitent un traitement particulier avant la fonctionnalisation.

Le procédé en une étape paraît le plus simple et le plus rapide. De plus la technique de microémulsion inverse semble particulièrement adaptée à ce type de fonctionnalisation. En effet, les particules étant stabilisées par le tensioactif, elles resteront stables et bien individualisées pendant la fonctionnalisation, garantissant un greffage homogène. D'un autre côté, l'étape de séchage ou de changement de solvant de la méthode en deux étapes peut entraîner une agglomération des particules. La méthode en une étape est donc plus adaptée pour un greffage homogène et c'est la voie que nous avons choisie. Même si l'agent de couplage et la méthode de fonctionnalisation ont été définis, il existe cependant de nombreux protocoles différents dans la littérature. En effet le rapport agent de couplage/TEOS, le temps de réaction et surtout le moment où l'agent de couplage est introduit peuvent varier sensiblement d'une publication à l'autre. Comme il n'était pas possible de tester tous les protocoles de la littérature, nous avons ainsi choisi d'en tester 4 en particulier. Deux de ces protocoles ont été récemment utilisés par Bunzli et al. [87] sur un système proche du nôtre :

incorporation d'un organolanthanide sans liaison covalent par voie micellaire inverse. Ces deux premiers protocoles ont initialement été développés pour la fonctionnalisation de particules dopées par un complexe de ruthénium. Des variations importantes de l'intensité de luminescence en fonction du protocole de fonctionnalisation utilisé ont été observées. La première méthode consiste à faire croître une deuxième couche de silice après la synthèse des particules suivi de l'APTES alors que dans la deuxième voie, il est ajouté simultanément avec le TEOS. La troisième méthode choisie est fréquemment rencontrée dans la littérature. Elle consiste simplement à ajouter l'agent de couplage après la formation des particules de silice [131, 134, 135]. Enfin, nous avons testé une dernière méthode dans laquelle l'agent de couplage est ajouté 30 minutes avant l'ajout du TEOS.

Après avoir exposé ces différents protocoles, nous nous intéresserons à l'influence de la fonctionnalisation sur la morphologie des particules et sur leurs propriétés de luminescence. L'objectif étant de déterminer le protocole nous permettant de synthétiser des particules possédant des fonctions amines en surface, tout en conservant les propriétés de luminescence de la silice non fonctionnalisée.

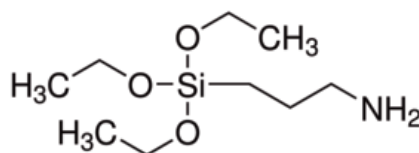


Figure 51 Structure chimique de l'APTES

- Méthode 1 : Le protocole classique de la microémulsion quaternaire présenté au 3.2.1 est utilisé. Après les 24 h d'agitation, 50 μL de TEOS sont ajoutés, suivi par 10 μL d'APTES 30 minutes plus tard. Après 24 h, la microémulsion est déstabilisée par un ajout d'acétone et les particules sont récupérées et lavées suivant le même protocole que celui utilisé pour la quantification en radioactif.
- Méthode 2 : Le protocole classique de la microémulsion quaternaire est utilisé, sauf qu'un mélange de 73 μL de TEOS + 27 μL d'APTES est ajouté à la place des 100 μL de TEOS. 48 h plus tard les particules sont récupérées et lavées comme précédemment.
- Méthode 3 : Le protocole classique de la microémulsion quaternaire est utilisé mais 10 μL d'APTES sont ajoutés en même temps que les 100 μL de NH_4OH , 30 minutes avant les 100 μL de TEOS. 24 h plus tard les particules sont récupérées et lavées comme précédemment.
- Méthode 4 : Le protocole classique de la microémulsion quaternaire est utilisé. Après les 24 h de réaction, 10 μL d'APTES sont ajoutés. 24 h plus tard les particules sont récupérées et lavées comme précédemment.

Dans un premier temps nous nous sommes intéressés à l'influence de ces modifications sur la morphologie des particules. Les images MET des particules obtenues par les quatre méthodes sont présentées à la Figure 52.

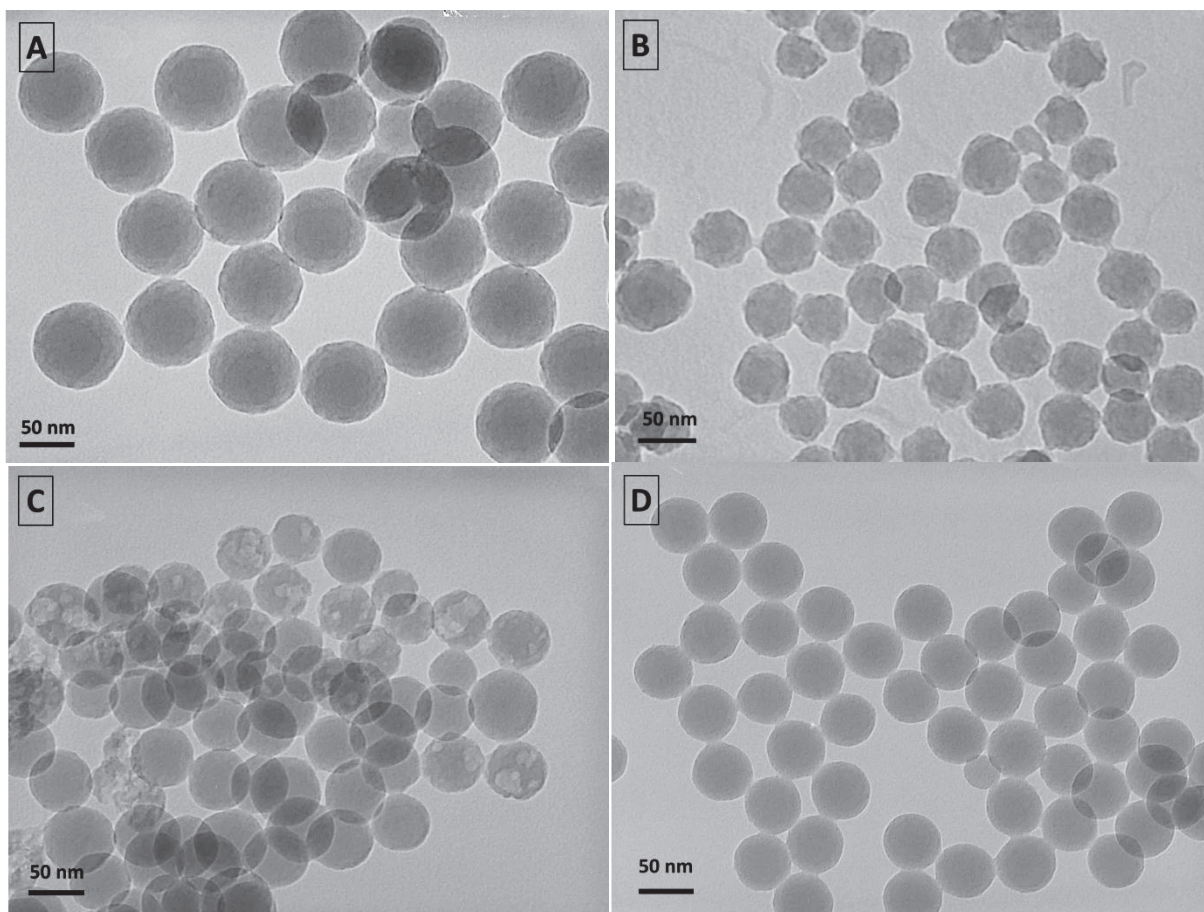


Figure 52 Images MET des particules de silice obtenues par les différentes méthodes de fonctionnalisation. A) Méthode 1 : 78 ± 5 nm ; B) Méthode 2 : 50 ± 9 nm ; C) Méthode 3 : 54 ± 9 nm ; D) Méthode 4 : 55 ± 6 nm.

Les méthodes 1 et 4 (Figure 52 A et B) permettent de conserver la morphologie des particules. Comme on pouvait s'y attendre, la méthode 1 conduit cependant à des particules plus grosses à cause de la deuxième étape de croissance et de la quantité en TEOS plus importante. En revanche les particules obtenues par les deux autres méthodes montrent des changements importants de morphologie. Les particules de la méthode 2 (Figure 52 B) ne sont plus vraiment sphériques et leur état de surface n'est pas régulier. De plus la polydispersité augmente. L'APTES semble perturber la formation du réseau de silice. En effet la substitution d'un groupement éthoxy par la fonction amine induit des défauts lors de la formation du réseau tétraédrique de la silice. Ceci est confirmé par les résultats obtenus avec la méthode 3 (Figure 52 C) où certaines particules présentent une porosité non contrôlée. Dans ce cas l'APTES, qui est introduit 30 minutes avant le TEOS (et qui par ailleurs s'hydrolyse plus rapidement [136]), a cette fois le temps de s'arranger en « micro-domaines » créant ces zones non polymérisées ou de porosité différente. Les particules non affectées par cet effet sont probablement formées lors de l'ajout du TEOS, et ont par conséquent la même morphologie que celles obtenues par le protocole de synthèse classique. Ceci confirme que les molécules d'APTES commencent à s'hydrolyser et à s'arranger entre elles avant l'ajout du TEOS, d'où la présence de deux populations de particules. En revanche pour la méthode 2, le TEOS et l'APTES étant ajoutés au même moment, une seule morphologie est observée. En effet même si l'APTES réagit plus rapidement, il peut réagir avec le TEOS qui commence à s'hydrolyser et qui « structure » en quelque sorte les défauts.

Afin de confirmer qualitativement la présence de fonctions amines en surface des particules, nous avons mesuré le potentiel zêta en fonction du pH pour les 4 méthodes utilisées (Figure 53), ainsi que celui de particules non fonctionnalisées (noté silice).

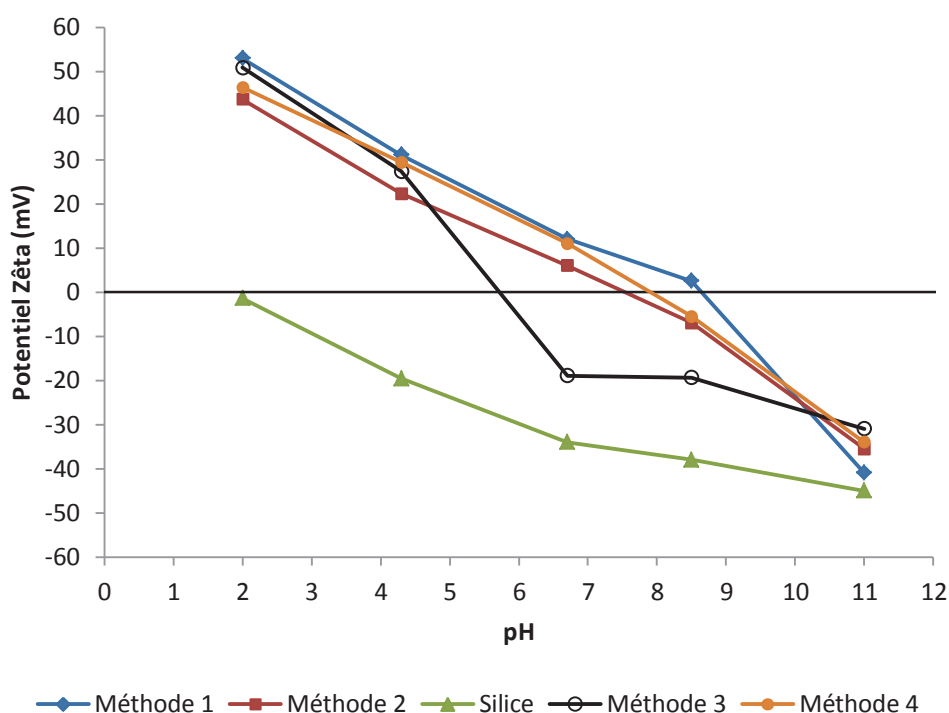


Figure 53 Evolution du potentiel zêta en fonction du pH pour les différentes méthodes de fonctionnalisation

L'évolution du potentiel zêta des particules non fonctionnalisées est conforme à celle décrite dans la littérature, avec un point isoélectrique aux environs de pH=2. Pour les méthodes 1, 2 et 4, le comportement semble également assez similaire à ce qui a été décrit dans la littérature et observé au laboratoire dans le cadre de la thèse de J. Samuel [33]. En effet Wu et al. [131] ont reporté un point isoélectrique autour de pH=9 dans le cas d'une silice fonctionnalisée par l'APTES. Le point isoélectrique un peu plus bas observé pour les méthodes 2 et 4 peut provenir d'une fonctionnalisation moins efficace. Toutefois, l'absence d'un nombre suffisant de points expérimentaux dans cette région rend une discussion plus poussée hasardeuse. Pour étudier précisément cet effet, il aurait fallu quantifier le taux de recouvrement des fonctions amines par une technique de fluorescence par exemple [137], mais le but était ici avant tout de vérifier qualitativement la présence des fonctions amines. Le comportement des particules de la méthode 3 est plus inattendu. Il semble être intermédiaire entre le comportement de la silice non fonctionnalisée et celui de la silice fonctionnalisée. Ceci vient certainement de la présence de deux populations de particules comme cela a été suggéré précédemment au regard des clichés de MET. Ce comportement reste cependant un peu surprenant car on aurait pu penser que la plupart des fonctions amines étaient enfouies à l'intérieur des particules dans ce cas.

Ces mesures confirment la présence de fonctions amines en surface. Ces solutions colloïdales sédimentent en effet beaucoup plus rapidement dans l'eau ultra pure (pH=6,7) que la silice non fonctionnalisée du fait de leur potentiel zêta qui est à ce pH bien plus faible en valeur absolue.

L'objectif de cette partie était avant tout de déterminer la méthode de fonctionnalisation permettant de conserver les propriétés de luminescence des particules. Ces solutions colloïdales ont

ainsi été caractérisées au spectrofluorimètre dans les mêmes conditions d'enregistrement et de volume que pour les particules non fonctionnalisées. Les intensités maximales (à 614 nm pour [Eu(tpatcn)] et à 542 nm pour [Tb(ebpatcn)]) ont ainsi été comparées. Les résultats sont résumés à la Figure 54.

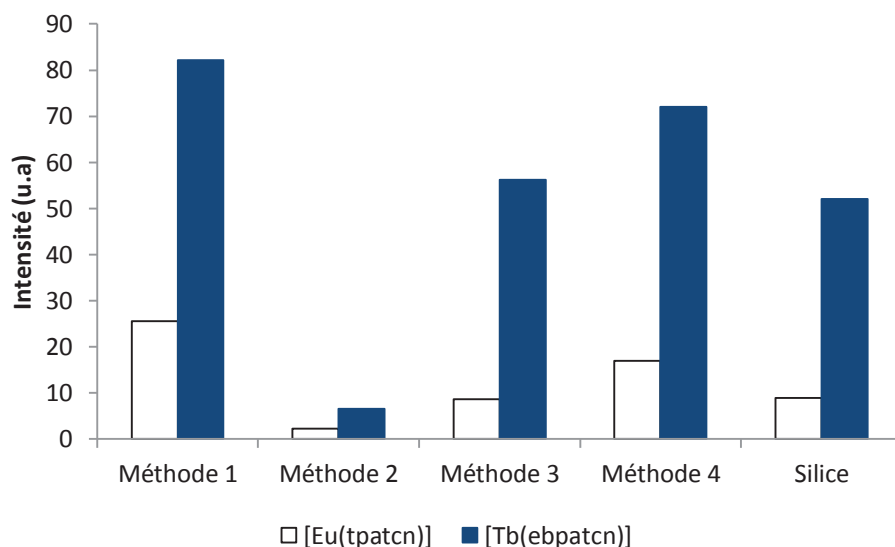


Figure 54 Comparaison de l'intensité de luminescence au maximum d'émission en fonction de la méthode de fonctionnalisation. La longueur d'onde d'excitation est de 275 nm.

Les variations d'intensité sont similaires pour les deux complexes. Il est clair que la méthode 2 provoque une nette baisse de l'intensité de luminescence. Aucune modification des spectres d'émission n'a été observée. Cela semble signifier que la quantité incorporée chute brusquement pour les deux complexes quand les fonctions amines sont introduites suivant la méthode 2. La croissance des particules de silice étant très affectée dans ce cas, il n'est pas étonnant de penser que l'incorporation l'est aussi. De plus la grande quantité d'APTES utilisée dans ce cas doit provoquer une modification importante du réseau interne et augmenter la porosité, entraînant probablement un relargage important pendant les lavages. Pour les autres méthodes, l'intensité de luminescence est comparable à celle de la synthèse classique voire supérieure. Il faut cependant rester prudent car cette méthode de comparaison est assez imprécise. De plus les objets comparés n'ont pas forcément la même taille, les observations faites ici sont donc purement qualitatives. La plus nette augmentation de luminescence est observée dans les deux cas pour la méthode 1. Le ré-enrobage de la particule initiale avec une deuxième couche de TEOS permet de protéger les organolanthanides situés en périphérie des particules. Ainsi leur désorption pendant les étapes de lavage est probablement réduite. L'augmentation de luminescence est d'ailleurs plus marquée pour [Eu(tpatcn)] qui est majoritairement localisé à la surface des particules. Cet effet est également observé avec un simple ré-enrobage par l'APTES (méthode 4), même s'il semble moins important. Si la méthode 1 permet une meilleure protection par gêne stérique imposée par la deuxième couche de silice, on peut s'interroger sur le rôle de la couche d'APTES, beaucoup moins épaisse. Il est possible que des liaisons hydrogènes supplémentaires rentrent en jeu. Curieusement les particules obtenues par la méthode 3 ont une intensité de luminescence comparable à celle des particules de silice non fonctionnalisées. On aurait en effet pu penser que vue la morphologie des particules, un comportement similaire à celui de la méthode 2 soit observé. Il est possible que dans ce cas, les domaines où l'APTES a réagi, et où la porosité est plus importante, soient localisés au cœur de la

particule. Les complexes situés dans ces zones sont donc protégés par une deuxième couche de silice. De plus comme les images MET l'ont révélé, une partie des particules n'est pas affectée par l'APTES et elles présentent une morphologie identique à celles des particules non fonctionnalisées.

Ces observations restent qualitatives et il est difficile d'émettre plus d'hypothèse à partir de ces seules données. Il aurait été intéressant de caractériser ces particules par traçage radioactif. Malheureusement par faute de temps, cela n'a pas été possible. Cependant nous avons identifié deux méthodes de fonctionnalisation en une étape qui permettent de conserver (voire d'augmenter) l'intensité de luminescence, la morphologie et la monodispersité des particules. Il s'agit des méthodes 1 et 4. La première entraîne une légère augmentation de la taille, mais offre probablement une meilleure protection vis-à-vis de la désorption grâce à sa seconde couche de silice. La deuxième en revanche ne modifie pas la taille des particules par rapport aux particules de silice non fonctionnalisées.

Des méthodes de quantification fiables étant à présent disponibles, il serait intéressant de confirmer les effets observés de manières qualitatives, et d'étendre l'étude à d'autres alcoxydes de silicium possédant des fonctions ou des vitesses de réaction différentes.

6 Influence des conditions de synthèse en microémulsion

Dans l'introduction de ce chapitre, un certain nombre de paramètres affectant la taille et la morphologie des nanoparticules de silice synthétisées par voie sol-gel en microémulsion inverse ont été présentés. Dans cette partie, nous allons nous intéresser à l'influence de ces paramètres sur les propriétés de luminescence des nanoparticules. Seul le système quaternaire TEOS/Triton X-100/Hexanol/Cyclohexane a été exploré avec les complexes [Eu(tpatcn)] et [Tb(ebpatcn)]. Ainsi l'influence de la concentration en complexe introduite, du rapport molaire $R = \text{eau/Triton X-100}$, du rapport molaire $\rho = \text{Hexanol/Triton X-100}$ ainsi que de la quantité d'ammoniaque ont été successivement étudiés. Dans les conditions de synthèse classique présentées au paragraphe 3.2.1, les rapports molaires R et ρ sont respectivement égaux à 9,8 et 4,7. Cette étude a été uniquement menée sur les particules de 50 nm.

- **Influence de la concentration en complexe**

Des quantités croissantes de complexes [Tb(ebpatcn)] et [Eu(tpatcn)] ont été introduites selon le protocole de synthèse présenté au paragraphe 2.2.1. Le rapport molaire $R = \text{eau/Triton X-100}$ reste en revanche constant, égal à 9,8. Le Tableau 16 résume les quantités mises en jeu.

Tableau 16 Composition de la microémulsion quaternaire pour différentes quantités en complexe introduites

Composés	Quantité
Triton X-100	1,65 mL
Hexanol	1,60 mL
Cyclohexane	7,5 mL
Organolanthanide	0,8/1,6/2,4/4,8 μmol
Eau	0,48 mL
TEOS	0,1 mL
NH ₄ OH (28-30 %)	0,1 mL

Les intensités d'émission maximales des solutions colloïdales de silice lavées à 0,5 mg/mL ont été enregistrées dans les mêmes conditions. Les résultats sont rassemblés sur la Figure 55.

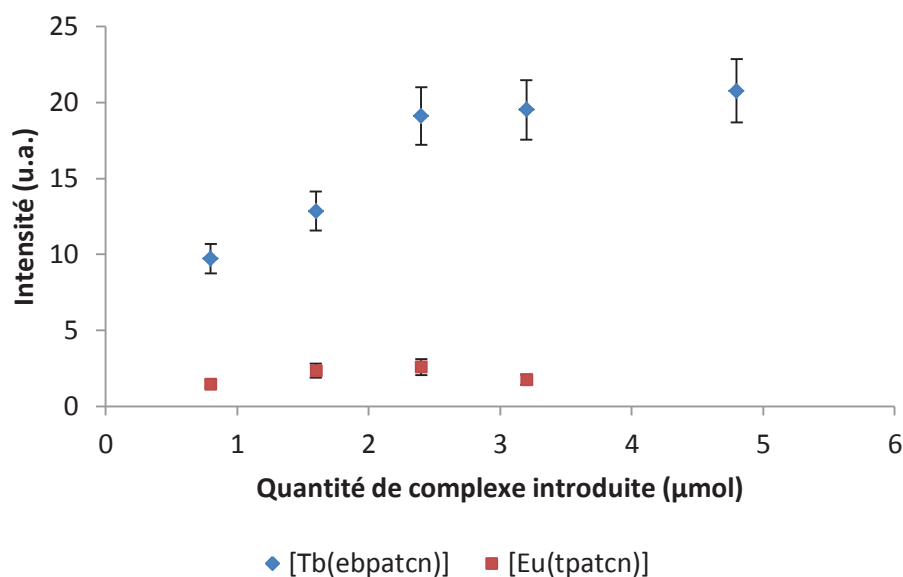


Figure 55 Evolution de l'intensité maximale de luminescence (542 nm pour [Tb(ebpatcn)] et 614 nm pour [Eu(tpatcn)]) des nanoparticules (0,5 mg/mL) en fonction de la quantité initiale introduite. Excitation à 275 nm pour les deux complexes.

Dans le cas de [Tb(ebpatcn)], il semble que l'intensité enregistrée à 542 nm augmente dans un premier temps avec la quantité de complexe introduite. Au-delà de 2,4 μmol en revanche, l'intensité n'évolue plus de manière significative, indiquant probablement que la capacité maximale d'incorporation est atteinte. En revanche dans le cas de [Eu(tpatcn)] l'intensité enregistrée à 614 nm ne montre aucune évolution notable sur la gamme de concentrations testée. Ces résultats sont en accord avec ce qui avait été observé par la méthode de traçage radioactif. En effet, l'étude de la composition des surnageants avait montré qu'une grande partie de [Eu(tpatcn)] était déjà en excès pour une quantité initiale d'introduite de 0,8 μmol, indiquant que la capacité maximum d'incorporation était atteinte. Il n'est donc pas étonnant de ne pas observer d'augmentation de la luminescence. Une partie de ces échantillons ont ensuite été caractérisés par MET afin d'étudier l'influence de la concentration en complexe sur la morphologie des particules (Figure 56).

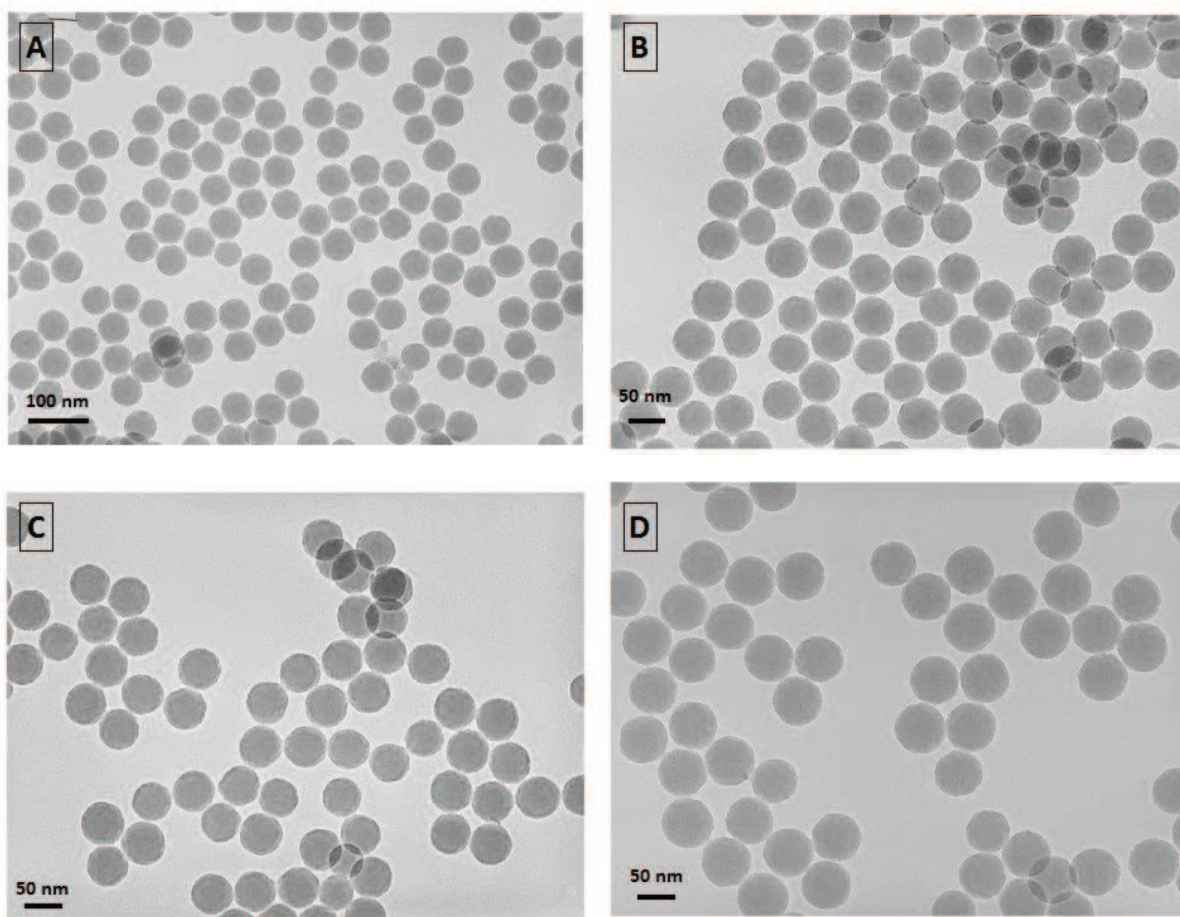


Figure 56 Images MET des nanoparticules de silice pour différentes quantités de matière de [Tb(ebpatcn)] introduites (A : 0,8 μmol ; B : 1,6 μmol ; C : 2,4 μmol ; D : 4,8 μmol)

Tableau 17 Taille moyenne des particules de silice déterminées à partir des images MET pour différentes quantités de [Tb(ebpatcn)] introduites

Quantité de [Tb(ebpatcn)] introduite (μmol)	Taille des particules (nm)
0,8	54 ± 6
1,6	58 ± 6
2,4	56 ± 6
4,8	71 ± 14

La taille des particules n'évolue pas de manière significative pour des quantités de [Tb(ebpatcn)] introduites allant de 0,8 à 2,4 μmol (Tableau 17). La morphologie n'est pas affectée non plus et les particules restent sphériques et monodisperses sur cette gamme de concentration (Figure 35). Les valeurs trouvées confirment cependant que la présence du complexe [Tb(ebpatcn)] augmente légèrement la taille des particules finales par rapport aux particules ne contenant pas de complexe ou aux particules chargées avec le complexe [Eu(tpatcn)]. En revanche quand 4,8 μmol de complexe sont introduits, la taille et la distribution en taille des particules augmentent de manière significative. De plus les images en STEM en mode HAADF révèlent également la présence de filaments contenant du terbium à la surface des particules de silice pour cette concentration (Figure 57). Il semble donc qu'à cette concentration, les particules soient saturées en complexes ce qui provoque une légère

déstabilisation du système. Les filaments observés sont sans doute dus à des complexes en excès qui se sont agglomérés en surface et qui ont polymérisé avec du TEOS à l'interface de la micelle.

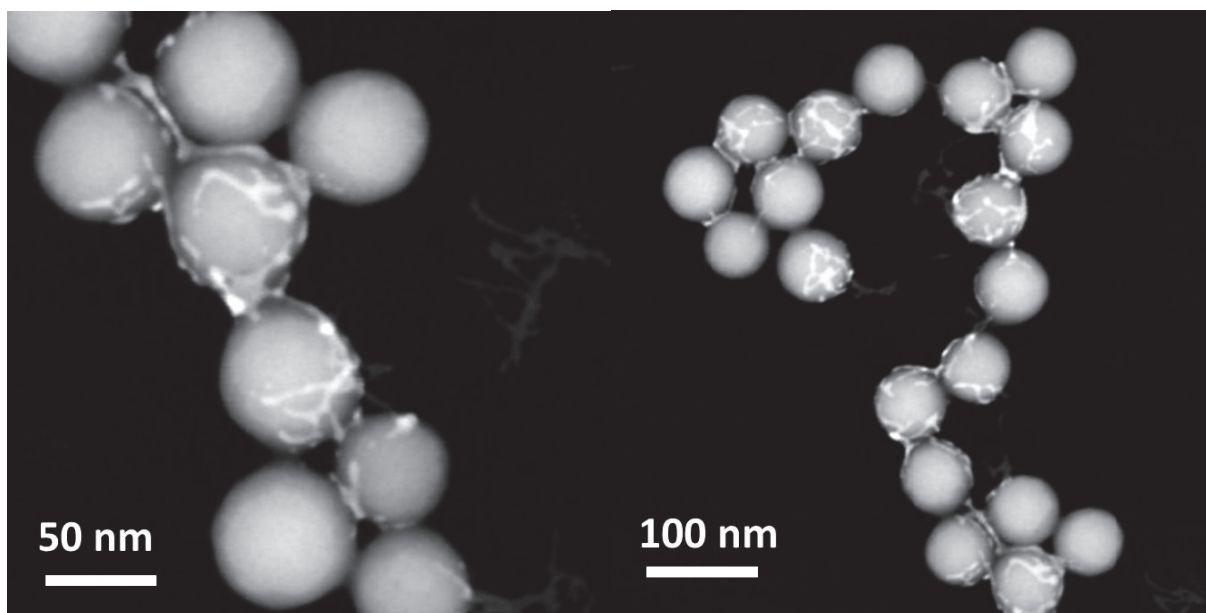


Figure 57 Images STEM HAADF des particules de silice pour une quantité de [Tb(ebpatcn)] introduite de 4,8 μmol . L'analyse EDX des filaments brillants décorant la surface de certaine particule a révélé la présence de terbium.

Dans le cas de l'[Eu(tpatcn)] en revanche, aucune augmentation de la taille des particules n'a été observée (Figure 58). En effet pour les deux quantités limites introduites (ie., 0,8 et 4,8 μmol), le diamètre moyen des particules est respectivement de 50 ± 6 nm et de 53 ± 15 nm. La seule différence notable entre ces deux échantillons vient de la polydispersité qui semble plus importante pour la concentration en complexe la plus élevée. Il est possible qu'une trop grande quantité de [Eu(tpatcn)] à l'interface perturbe la diffusion du TEOS dans les gouttelettes et modifie les mécanismes de collisions inter-micellaires, entraînant une nucléation moins homogène.

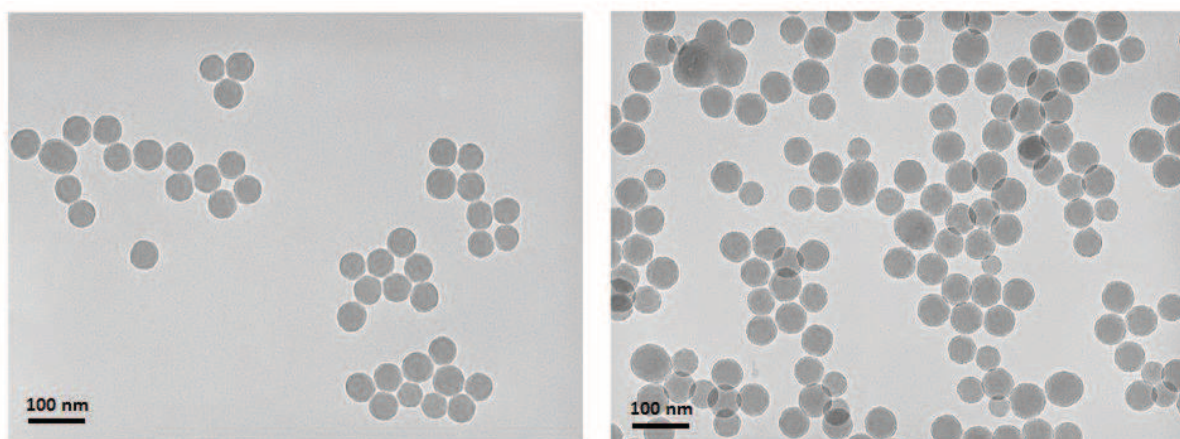


Figure 58 Images MET des particules de silice pour des quantités introduites en [Eu(tpatcn)] de 0,8 μmol (à gauche) et de 4,8 μmol (à droite)

- **Influence du rapport molaire $p = \text{Hexanol/Triton X-100}$**

Nous avons étudié dans cette partie l'influence du co-tensioactif en faisant varier la quantité d'hexanol introduite. Les autres constituants de la microémulsion sont inchangés.

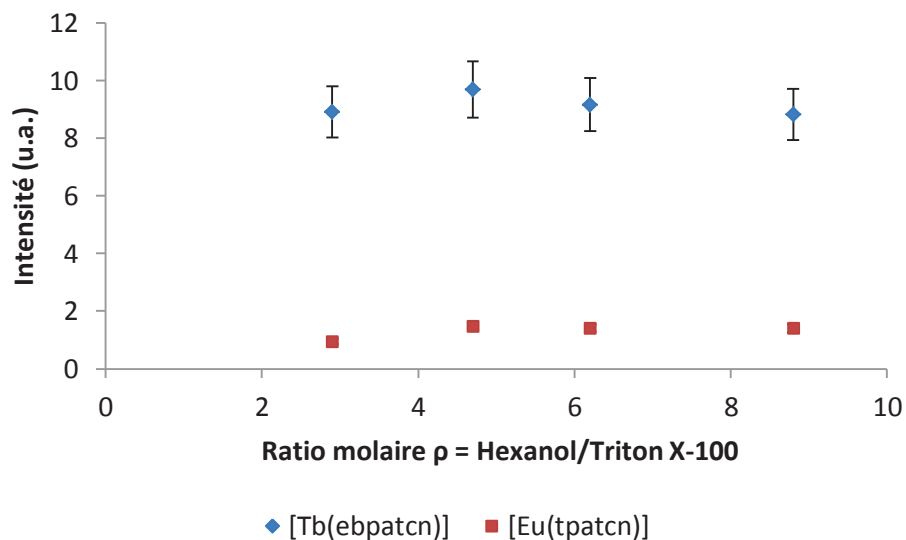


Figure 59 Evolution de l'intensité maximale de luminescence (542 nm pour [Tb(ebpatchn)] et 614 nm pour [Eu(tpatchn)]) des nanoparticules (0,5 mg/mL) en fonction du rapport molaire $p = \text{Hexanol/Triton X-100}$. Excitation à 275 nm pour les deux complexes.

Les spectres d'excitation et d'émission ne sont pas modifiés quelle que soit la quantité d'hexanol ajoutée pour les deux complexes. L'intensité maximum de luminescence n'évolue pas non plus de manière significative semblant indiquer que l'hexanol n'influence pas le procédé d'incorporation à ces concentrations (Figure 59). La taille et la morphologie des particules ainsi synthétisées ont été déterminées par MET (Figure 60 et Figure 61 pour [Tb(ebpatchn)] et [Eu(tpatchn)] respectivement).

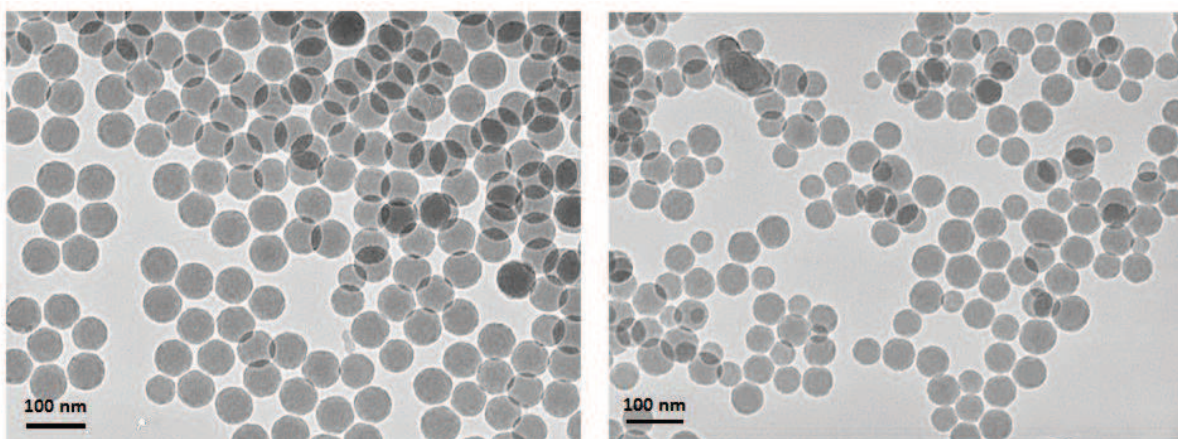


Figure 60 Images MET des particules de silice dopées avec [Tb(ebpatchn)] pour $p = 2,9$ (à gauche) et $p = 8,8$ (à droite)

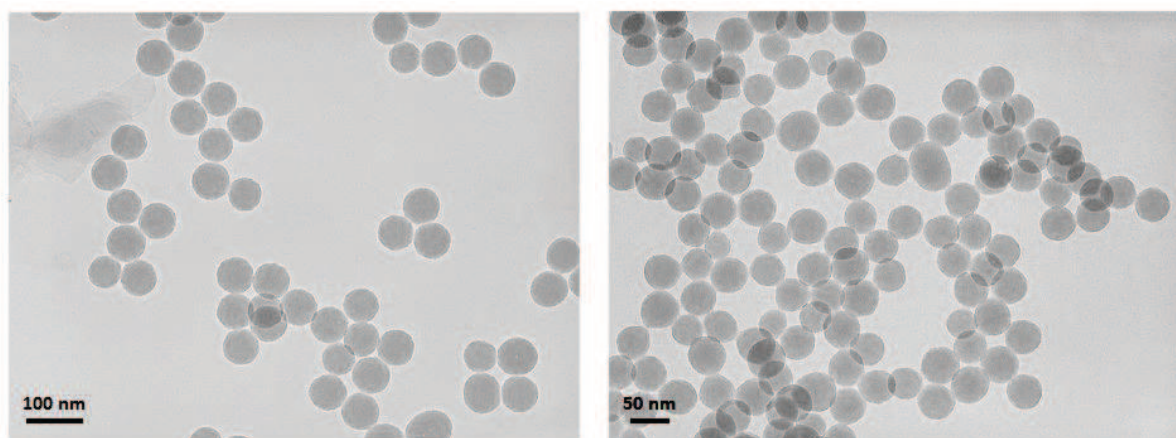


Figure 61 Images MET des particules de silice dopées avec [Eu(tpatcn)] pour $\rho = 2,9$ (à gauche) et $\rho = 8,8$ (à droite)

Tableau 18 Taille moyenne des particules de silice déterminées à partir des images MET pour différents rapports molaires ρ

Rapport molaire $\rho = \text{Hexanol/Triton X-100}$	Diamètre des particules (nm)	
	[Eu(tpatcn)]	[Tb(ebpatcn)]
2,9	65 ± 6	68 ± 10
4,7	50 ± 6	54 ± 6
8,8	47 ± 9	50 ± 14

Pour les deux complexes, la taille des particules diminue à mesure que la quantité en co-tensioactif augmente. Ceci est en accord avec les travaux de Bagwe et al. [35]. En effet l'adsorption d'alcool à l'interface modifie le rayon de courbure des gouttelettes et provoque une diminution de la rigidité interfaciale. Les échanges inter-micellaires sont ainsi favorisés. De plus la diminution de la tension interfaciale entraîne la formation d'un plus grand nombre de gouttelettes. Ainsi non seulement un plus grand nombre de molécules de TEOS vont être adsorbées à l'interface eau/huile, mais les collisions entre gouttelettes sont également plus nombreuses. La combinaison de ces deux effets favorise la formation rapide d'un grand nombre de noyaux, et donc la formation de plus petites particules. La modification de la flexibilité du film de tensioactif ne semble en revanche pas avoir d'effet sur l'incorporation de nos complexes.

- **Influence de la quantité d'ammoniaque introduite**

L'ammoniaque sert de catalyseur pour les réactions d'hydrolyse et de condensation du TEOS en fournissant des ions OH^- au système. La mobilité de ces ions, et donc l'efficacité de la catalyse influence directement la taille des particules finales, comme cela a été montré dans le cas de synthèses en milieu homogène [2, 3, 132, 138, 139]. En revanche dans le cas d'un milieu dispersé comme la microémulsion, l'influence de l'ammoniaque s'avère beaucoup plus complexe et variable en fonction des conditions de synthèse. En effet en fonction du rapport molaire R, la concentration en ammoniaque peut entraîner une augmentation ou une diminution de la taille des particules, ou même n'avoir aucun effet. Ainsi Arriagada et Osseo-Asare [28, 30] ont montré pour le système Igepal

CO-520/Cyclohexane que pour une faible valeur de R, l'augmentation en ammoniacque provoquait une diminution de la taille des particules jusqu'à un minimum. En revanche pour un R plus élevé, l'augmentation de la concentration en ammoniacque entraîne une augmentation de la taille des particules. Ces études montrent que l'on ne peut pas discuter de l'influence de l'ammoniacque sans considérer les mécanismes de croissance des particules qui sont fortement affectés par R. L'augmentation de la concentration en ammoniacque, et donc celle des ions OH^- , provoque une accélération des vitesses d'hydrolyse et de nucléation. Un nombre de nucléis plus important est donc formé initialement ce qui conduit à la formation de particules plus petites. Logiquement une augmentation de la concentration en ammoniacque devrait donc induire une diminution de la taille des particules. Or pour de fortes concentrations en ammoniacque, la taille des particules augmentent [28]. En effet d'autres mécanismes antagonistes peuvent intervenir en fonction de R et de la concentration en ammoniacque. La taille peut aussi augmenter à cause de l'augmentation de la force ionique qui tend à écranter la portée des forces de répulsion électrostatique et donc à augmenter la taille des particules. De plus il s'avère que les liaisons siloxanes peuvent se dissocier dans les milieux fortement alcalin [140-142]. Il est donc possible qu'à forte concentration en ammoniacque, même si un grand nombre de nucléis est formé, ils ne soient pas suffisamment stables et se re-dissolvent avant de croître. Une deuxième hypothèse avancée pour expliquer l'augmentation de la taille de particules avec la concentration en ammoniacque, est l'existence d'échanges inter-micellaires qui sont favorisés pour de grandes valeurs de R et de fortes concentrations en ammoniacque [26, 28]. Ces collisions entre micelles peuvent favoriser la formation de nucléis dans un premier temps mais peuvent également conduire à leur agglomération par la suite, ce qui conduit à la formation de plus grosses particules [28, 30].

Des quantités variables ont été introduites dans le système afin d'évaluer son influence à la fois sur les propriétés de luminescence et sur la taille des particules finales. Le pH calculé varie entre 11,5 (pour 25 μL) et 11,9 (pour 200 μL).

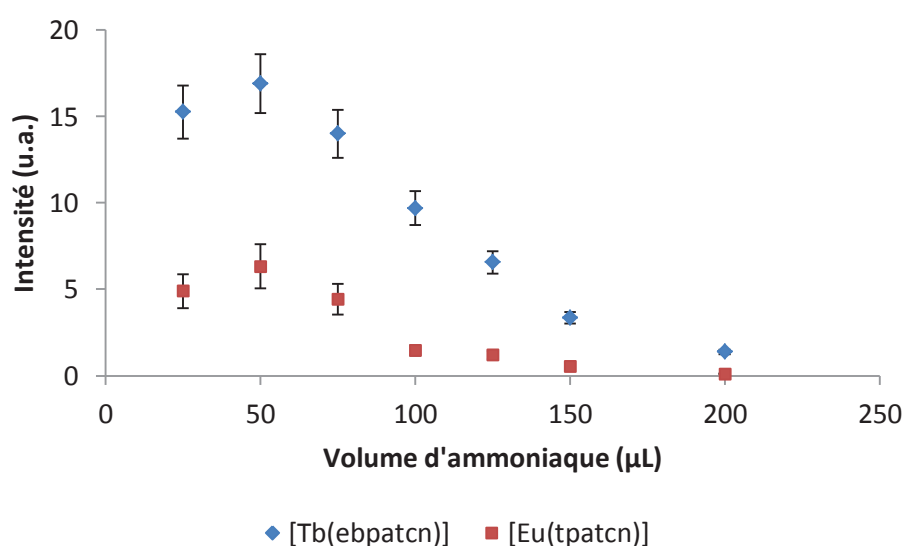


Figure 62 Evolution de l'intensité maximale de luminescence (542 nm pour [Tb(ebpatchn)] et 614 nm pour [Eu(tpatchn)]) des nanoparticules (0,5 mg/mL) en fonction du volume d'ammoniacque introduit. Excitation à 275 nm pour les deux complexes.

L'évolution de l'intensité maximale de luminescence est similaire pour les deux complexes (Figure 62). Il semble que cette intensité augmente lorsque la quantité d'ammoniaque introduite diminue. Il faut cependant rester prudent quant à l'interprétation de cette augmentation. En effet la comparaison des intensités de luminescence reste une méthode qualitative peu précise. L'évolution similaire observée pour les deux complexes semble indiquer que ce phénomène est dû au mécanisme de croissance des particules de silice et non à une modification des propriétés de luminescence des complexes avec l'ammoniaque. Ceci a été confirmé en ajoutant des quantités identiques d'ammoniaque à une solution aqueuse de complexe à la même concentration. Les spectres similaires enregistrés indiquent la bonne stabilité des complexes sur la gamme de pH étudié. Il semble donc qu'une diminution de la quantité d'ammoniaque entraîne une augmentation de l'incorporation. Cela signifierait que l'incorporation est plus efficace lorsque les réactions d'hydrolyse et de condensation sont ralenties. Afin de vérifier qu'une modification de la morphologie des particules n'est pas à l'origine des variations observées, ces dernières ont été caractérisées par MET (Figure 63 et Figure 64).

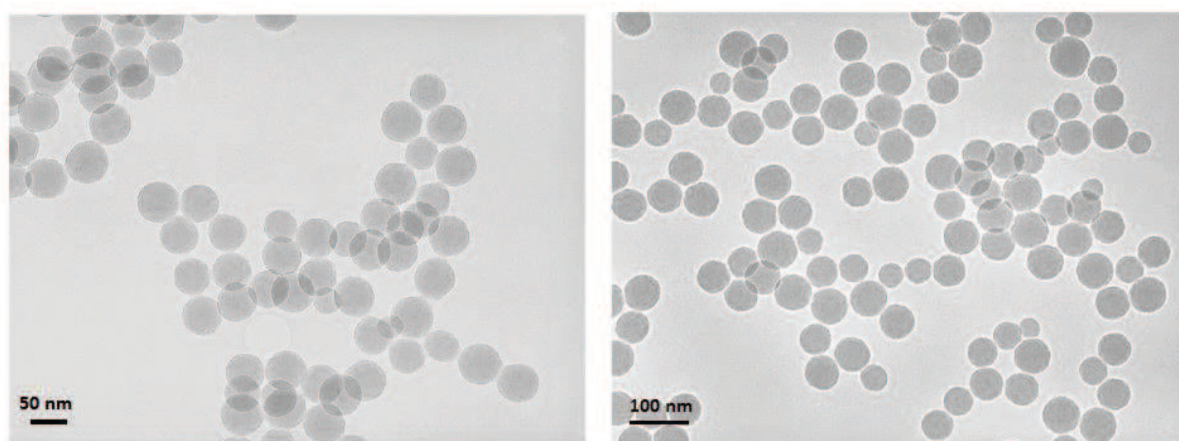


Figure 63 Images MET des particules de silice dopées avec [Tb(ebpatcn)] pour deux teneurs en ammoniaque différentes : 50 μ L à gauche et 150 μ L à droite.

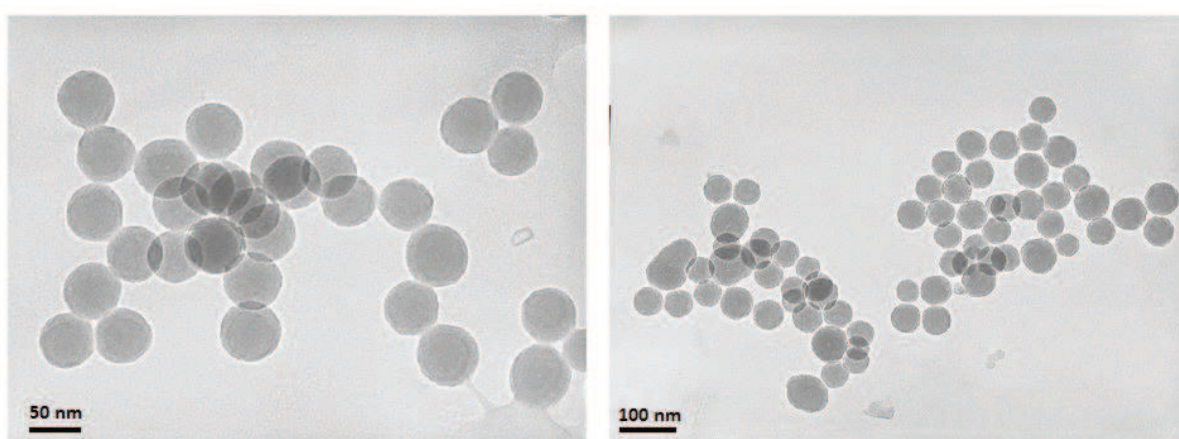


Figure 64 Images MET des particules de silice dopées avec [Eu(tpatcn)] pour deux teneurs en ammoniaque différentes : 50 μ L à gauche et 150 μ L à droite.

Tableau 19 Taille moyenne des particules de silice déterminées à partir des images MET pour les différents volumes en ammoniacque introduits. ^a Dans la phase aqueuse

Volume d'ammoniacque (29%) (μL)	NH ₃ (% massique) ^a	Diamètre des particules (nm)	
		[Eu(tpatcn)]	[Tb(ebpatcn)]
50	2,5	55 ± 6	57 ± 7
100	4,5	50 ± 6	54 ± 6
150	6,3	50 ± 13	55 ± 11

La taille des particules ne semble pas évoluer de manière significative dans la gamme de concentrations en ammoniacque testée (Tableau 19). Ces résultats sont proches de ceux de Bagwe et al. [35] qui n'observent pas d'évolution notable de la taille des particules dans des conditions analogues aux nôtres. En effet les observations faites par Arriagada et Osseo-asare [28] concernent des concentrations en ammoniacque bien plus élevées. De plus le système de tensioactifs utilisé dans leur cas est différent, ce qui rend la comparaison avec nos résultats difficile. De plus l'augmentation de NH₃ a été effectuée en ajoutant des quantités croissantes d'une solution d'ammoniacque à 29 % dans notre cas. Ainsi des quantités d'eau différentes sont présentes dans chacun des cas ce qui, comme nous l'avons vu, peut avoir un effet très important sur la taille finale des particules (modification du rapport R). A ce stade, il est donc difficile de faire une interprétation de ces résultats, il aurait fallu maintenir R constant. Dans la dernière partie, nous allons donc étudier l'influence de la concentration en eau dans le système en faisant varier le rapport molaire R.

- **Influence du rapport molaire R = Eau/Triton X-100**

Plusieurs études ont montré que la taille des particules diminue avec une augmentation du rapport molaire R [1, 26, 28, 30, 35]. Cette diminution est expliquée par un changement de la dynamique des réactions d'hydrolyse et de condensation du TEOS. Pour les faibles valeurs de R, la taille des micelles diminue et l'eau est majoritairement liée aux têtes polaires des tensioactifs. La mobilité des ions OH⁻ est également fortement réduite. De plus il y a moins de molécule de TEOS par gouttelettes ce qui rend la nucléation par un mécanisme intra-micellaire peu probable. En effet du fait de la gêne stérique induite par les molécules de tensioactif dans cette configuration, l'accès du TEOS vers les molécules d'eau est difficile ce qui ralentit son hydrolyse. C'est pourquoi pour de faibles teneurs en eau, peu de nucléis sont formés ce qui entraîne l'augmentation de la taille des particules finales. En revanche pour des valeurs de R élevées, les mécanismes d'hydrolyse et de condensation (i.e. nucléation) du TEOS sont favorisés. En effet, dans ce cas les gouttelettes sont plus grosses et contiennent majoritairement des molécules d'eau libres (i.e. réactives). De plus, l'augmentation de la taille des gouttelettes diminue l'effet d'écrantage des tensioactifs ce qui permet une meilleure diffusion du TEOS vers les gouttelettes. Il y a donc plus de molécules de TEOS par gouttelette et leur l'hydrolyse est favorisée du fait de la mobilité accrue de l'eau et des ions OH⁻. Ainsi la nucléation intra-micellaire est favorisée. Enfin le processus d'échange inter-micellaire est également augmenté car la tension interfaciale est moins importante dans ce cas (gouttelettes plus grosses). C'est pourquoi beaucoup de nucléis sont formés initialement, ce qui conduit à des particules de plus petites tailles. D'après Arriagada et Osseo-asare [26], des molécules d'eau non liées

électrostatiquement au tensioactif commencent à apparaître pour un rapport R égal à 5,8. Afin d'étudier l'influence de ces modifications sur l'incorporation de nos complexes, nous avons fait varier la quantité d'eau introduite sans changer le reste du protocole pour obtenir des valeurs de R comprises entre 4,9 et 19,8 (remarque : pour des valeurs inférieures à 4,9 aucune particule n'est récupérée).

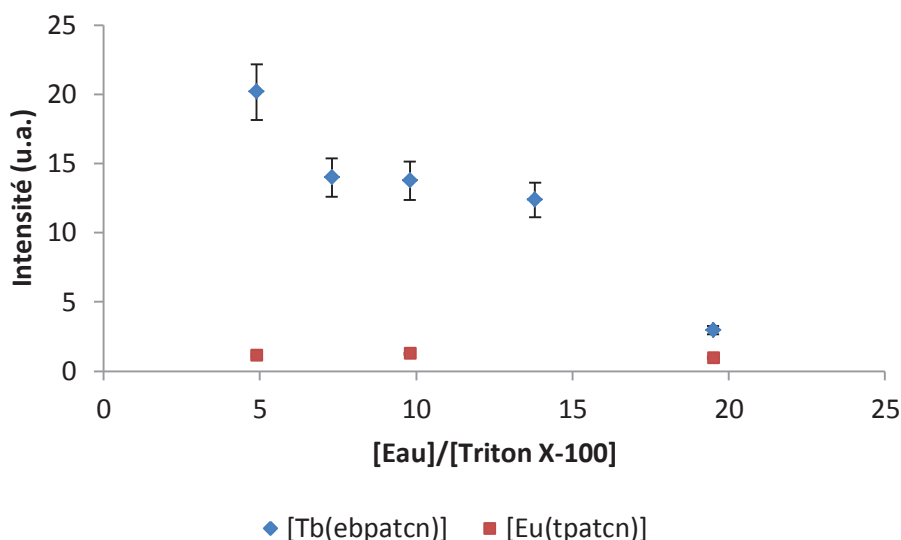


Figure 65 Evolution de l'intensité maximale de luminescence (542 nm pour [Tb(ebpatcn)] et 614 nm pour [Eu(tpatcn)]) des nanoparticules (0,5 mg/mL) en fonction du rapport molaire $R = \text{Eau/Triton X-100}$. Excitation à 275 nm pour les deux complexes.

Quel que soit la valeur de R, aucune évolution de l'intensité n'est observée pour le complexe [Eu(tpatcn)] (Figure 65). En revanche pour le [Tb(ebpatcn)], l'intensité à 542 nm évolue pour $R=4,9$ et $19,5$ alors qu'elle reste constante entre ces deux valeurs. Une augmentation de l'intensité est observée pour $R=4,9$. Dans cette configuration les molécules d'eau sont liées aux têtes polaires des tensioactifs et l'hydrolyse du TEOS est fortement inhibée. En revanche l'intensité diminue fortement pour $R= 19,5$. Dans ce cas l'hydrolyse du TEOS est largement favorisée du fait de l'accessibilité et de la mobilité des molécules d'eau. Afin de vérifier que l'évolution de la taille des particules en fonction de R est en accord avec les précédentes études et pour mettre en évidence une éventuelle influence de la morphologie des particules sur l'évolution de l'intensité, des caractérisation au MET ont été effectuées (Figure 66 et Figure 67 respectivement pour [Tb(ebpatcn)] et [Eu(tpatcn)]) .

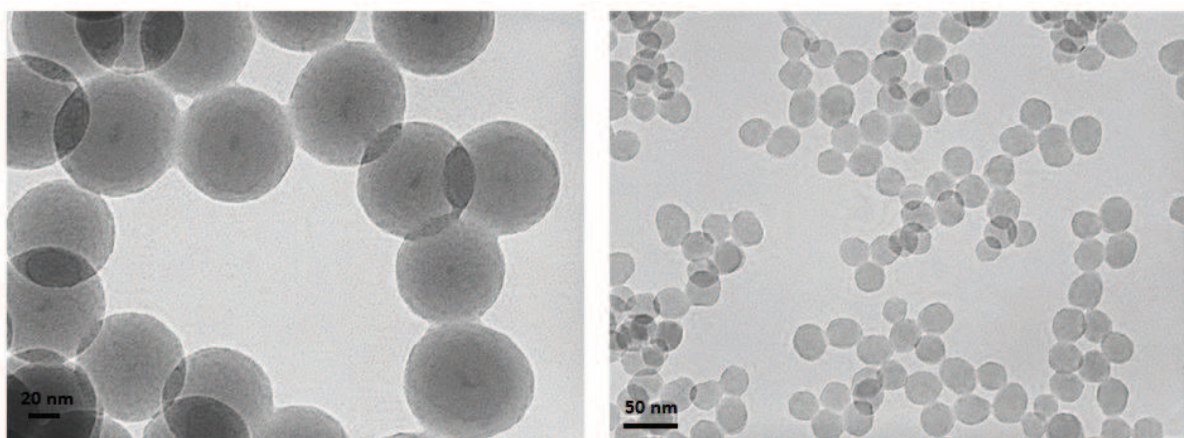


Figure 66 Images MET des particules de silice dopées avec [Tb(ebpatcn)] (0,8 μ mol introduite) pour deux rapports molaires R = Eau/Triton X-100 différents (R= 4,9 à gauche et R = 19,5 à droite).

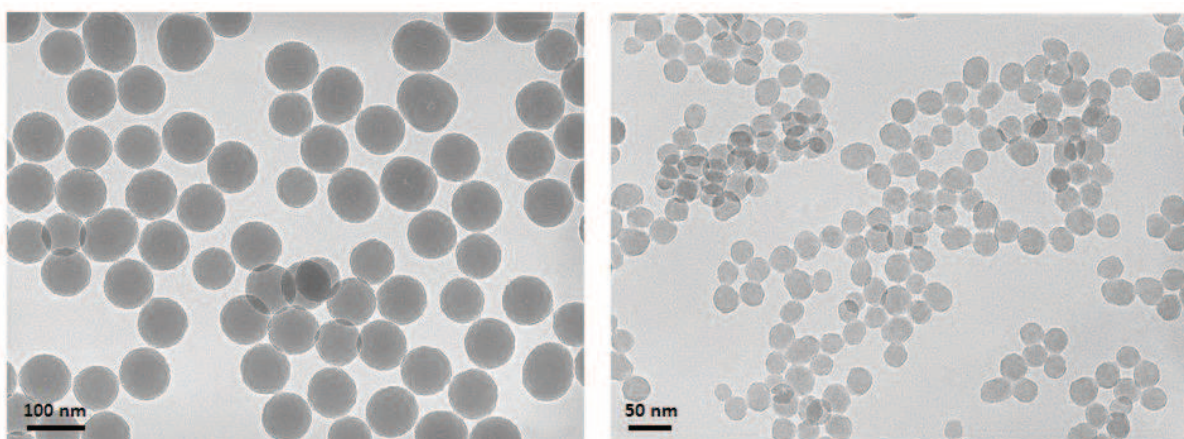


Figure 67 Images MET des particules de silice dopées avec [Eu(tpatcn)] (0,8 μ mol introduite) pour deux rapports molaires R = Eau/Triton X-100 différents (R= 4,9 à gauche et R = 19,5 à droite).

Tableau 20 Tailles moyennes des particules de silice déterminées à partir des images MET pour différents rapports molaires R

Rapport molaire R	Diamètre des particules (nm)	
	[Eu(tpatcn)]	[Tb(ebpatcn)]
4,9	82 \pm 11	85 \pm 15
9,8	50 \pm 6	54 \pm 6
19,5	30 \pm 8	32 \pm 9

Les caractérisations MET confirment que la taille des particules diminue à mesure que R augmente que ce soit pour [Eu(tpatcn)] ou pour [Tb(ebpatcn)] (Tableau 20). Ces résultats sont en accord avec les précédentes études d'Arriagada et Bagwe [28, 35]. De plus, on observe un point de contraste au cœur des particules dans le cas du complexe [Tb(ebpatcn)] pour R=4,8. Il s'agit d'un confinement à cœur de [Tb(ebpatcn)]. Une telle configuration n'est en revanche pas observée pour [Eu(tpatcn)], soulignant une fois de plus le comportement différent des deux complexes pendant l'incorporation.

Pour R=4,9, comme cela a été expliqué précédemment, la mobilité des espèces à l'intérieur des gouttelettes est très réduite à cause des interactions faibles avec les têtes polaires des tensioactifs.

De plus du fait de la taille réduite des micelles, les tensioactifs ont tendance à s'interpénétrer [28] ce qui restreint l'accès du TEOS aux molécules d'eau et réduit les échanges inter-micellaires [35]. Il est donc probable que les complexes hydrophiles [Tb(ebpatcn)] voient également leur mobilité fortement réduite dans ces conditions. On peut alors penser que ces complexes sont « immobilisés » à l'intérieur des gouttelettes d'eau et qu'ils sont relativement protégés par les tensioactifs des échanges par collision entre gouttelettes. La réduction de la taille des micelles (et de la quantité d'eau) peut également provoquer une agrégation des complexes. Ensuite l'hydrolyse du TEOS étant plus lente, le réseau de silice se forme autour des complexes immobilisés. Ainsi les complexes [Tb(ebpatcn)] sont d'abord confinés à cœur par des interactions faibles avec les tensioactifs, puis par gêne stérique imposée par le réseau de silice qui s'est formé autour de l'agrégat. Les complexes sont ainsi majoritairement localisés dans le volume de la micelle initiale dont la taille est d'environ 6 nm [1]. La taille des points de contraste, comprise entre 4 et 7 nm, semble confirmer cette interprétation.

Le complexe [Eu(tpatcn)] en revanche est, du fait de son caractère plus hydrophobe, localisé à la surface des particules comme nous l'avons déjà observé. Ainsi il n'est pas étonnant de ne pas observer de confinement avec ce complexe. Les interactions entre les têtes polaires des molécules de tensioactif et [Eu(tpatcn)] sont certainement moins importantes et les complexes doivent être essentiellement localisés à l'interface eau/huile. Ainsi, ils sont moins sujets aux variations de taille ou de mobilité des gouttelettes. De même que pour des R plus élevés, [Eu(tpatcn)] est donc probablement « repoussé » vers l'extérieur à mesure que la particule de silice croît. C'est pourquoi l'intensité ne semble pas évoluer de manière significative sur la gamme de R étudiée.

Afin de confirmer le phénomène de confinement de [Tb(ebpatcn)] et d'exacerber le contraste du Tb(III), des synthèses avec 2,4 μmol de complexes ont été effectuées (au lieu de 0,8 μmol). De plus des caractérisations microscopiques plus poussées en STEM HAADF ont été effectuées pour les deux concentrations afin de bien mettre en évidence les points de contraste (Figure 68 et Figure 69 pour des quantités de 0,8 et 2,4 μmol respectivement).

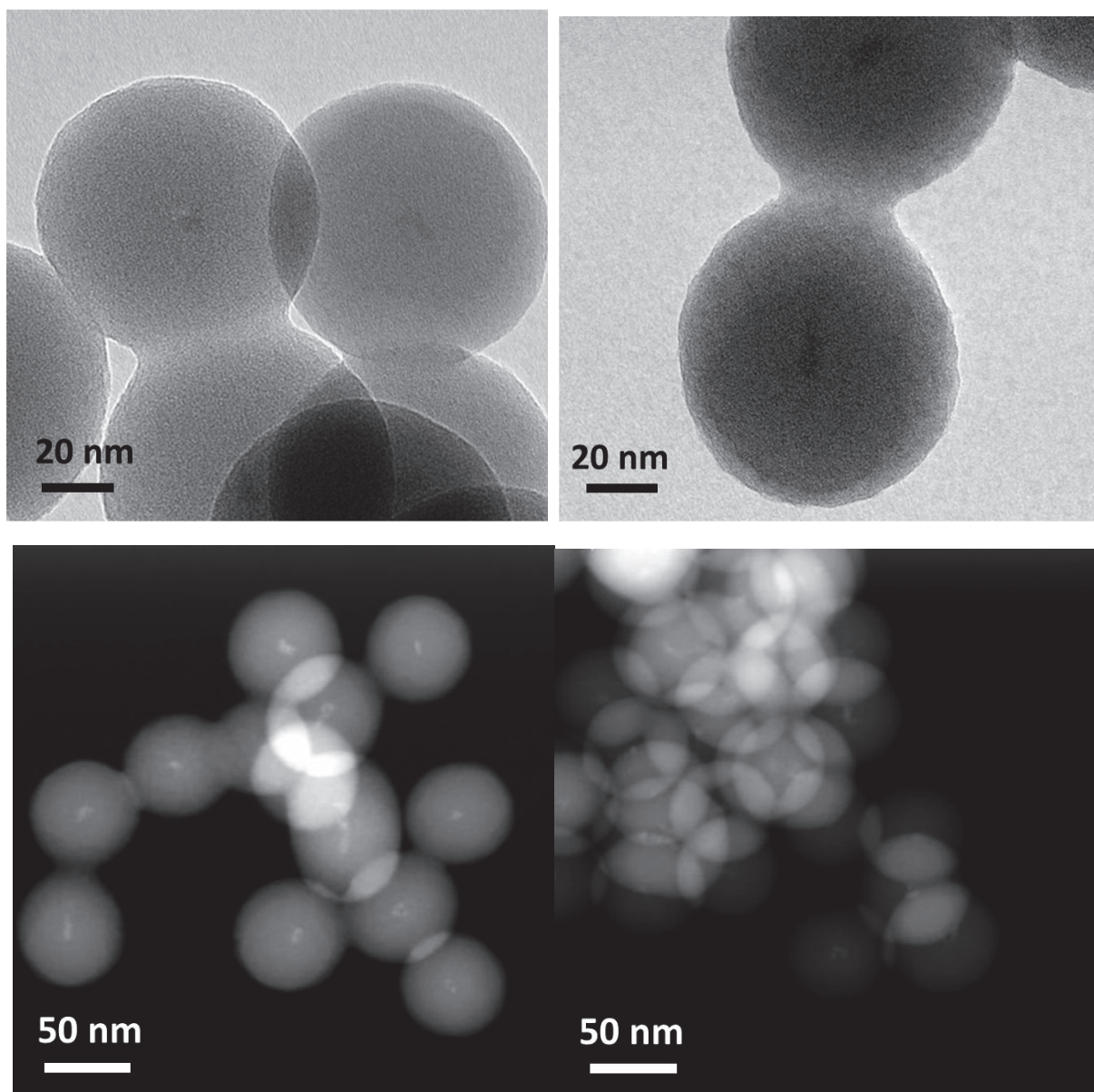


Figure 68 Images MET haute résolution (en haut) et STEM en mode HAADF (en bas) des particules de silice dopées avec [Tb(ebpatch)] (0,8 μ mol introduite) pour un rapport molaire R = 4,9

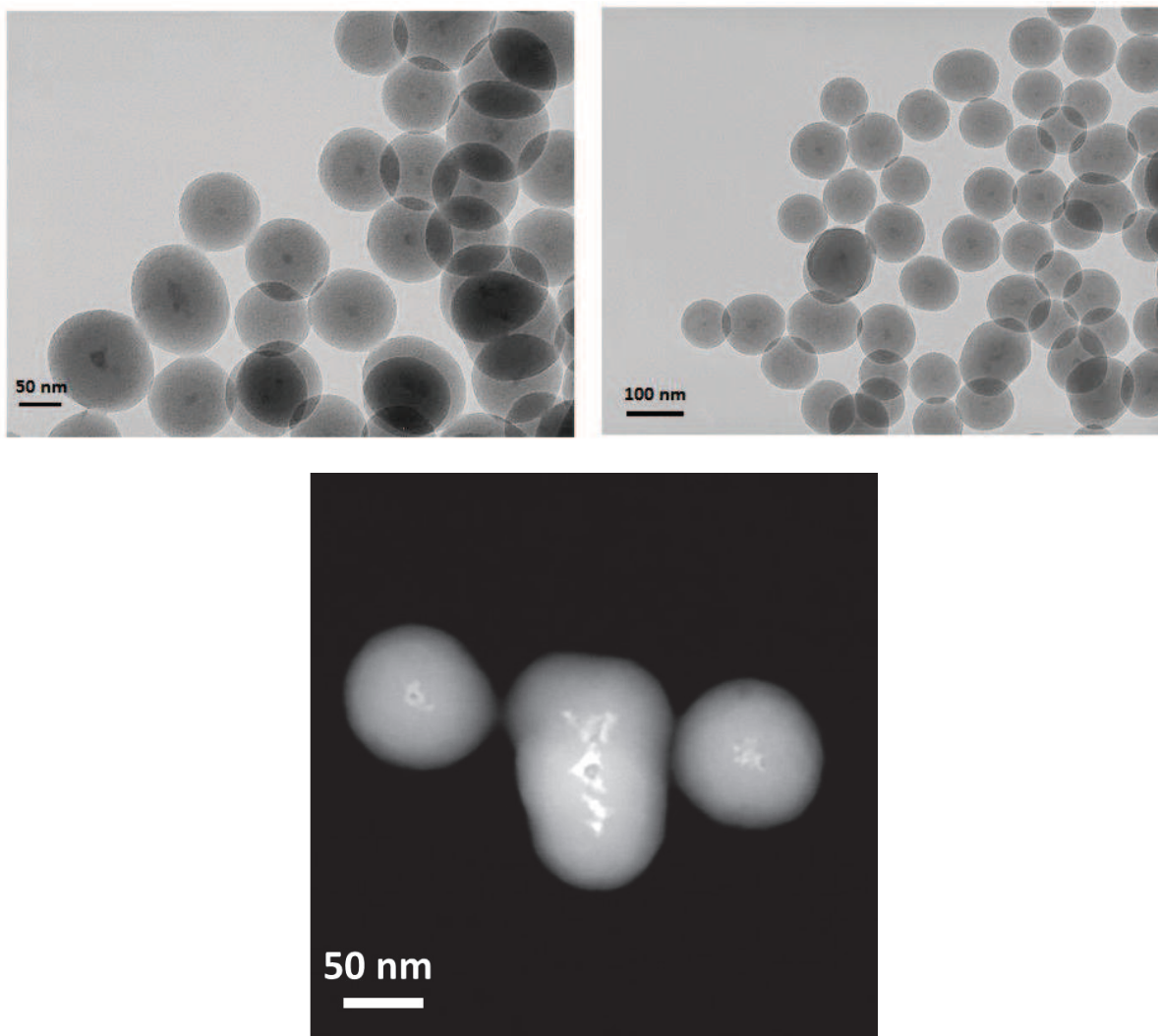


Figure 69 Images MET des particules de silice dopées avec [Tb(ebpatcn)] (2,4 μmol introduite) pour un rapport molaire $R = 4,9$. Images MET classique (en haut) et en STEM HAADF (en bas).

Les images présentées à la Figure 68 et à la Figure 69 confirment les premières observations quant au confinement à cœur de [Tb(ebpatcn)] pour un rapport molaire $R = 4,9$. La quantité de complexe à cœur est plus importante quand 2,4 μmol sont introduites. On observe par ailleurs une augmentation de la taille des particules ($97 \pm 15 \text{ nm}$) dans ce cas (Figure 48). La quantité de complexe confiné par particule n'est pas homogène. Ceci s'explique par le fait que pour ces valeurs de R , le domaine aqueux dans les micelles est mal défini. De plus la présence du complexe agrégé perturbe la croissance de la silice.

Cette propriété remarquable doit certainement avoir des conséquences sur l'efficacité d'incorporation et sur la stabilité des particules vis-à-vis du relargage. Malheureusement nous n'avons pas eu le temps de confirmer quantitativement ces hypothèses.

En conclusion, dans cette partie différents paramètres affectant les caractéristiques et la synthèse des billes de silice en microémulsion inverse ont été étudiés. Il s'agissait d'observer comment ces modifications (vitesse d'hydrolyse/condensation, dynamique d'échange des micelles) pouvaient influencer l'incorporation des complexes [Eu(tpatcn)] et [Tb(ebpatcn)]. Cette étude a mis en évidence des différences de comportement entre ces deux complexes, confirmant les

observations précédentes. [Eu(tpatchn)] est ainsi peu affecté par la modification des propriétés des micelles, du fait de sa localisation à l'interface des gouttelettes. En revanche la réduction de la taille des gouttelettes en diminuant le rapport R a entraîné l'agrégation de [Tb(ebpatchn)] qui est alors confiné au cœur de la particule. Ce qui confirme une fois de plus que ce complexe est réparti de manière homogène dans les gouttelettes d'eau initiales. De même, en augmentant la quantité de [Tb(ebpatchn)] introduite, une augmentation de la luminescence est observée. En revanche, pour [Eu(tpatchn)] aucune évolution sensible n'a été observée, car l'interface est déjà saturée et ne peut pas accueillir plus de complexe. Les autres paramètres ne semblent pas avoir de réel impact sur les mécanismes d'incorporation, même si une diminution de la quantité d'ammoniaque (diminution des vitesses d'hydrolyse/condensation) semble entraîner une légère augmentation de la luminescence dans les deux cas. Il faut cependant rester prudent car nous nous sommes uniquement basés sur les variations d'intensité de luminescence. Une quantification plus précise est nécessaire pour pouvoir discuter de ces effets. Malheureusement, cela n'a pas pu être effectuée au cours de cette thèse par faute de temps. Cette étude préliminaire a néanmoins montré qu'il était possible d'influencer l'incorporation des complexes et les propriétés de luminescence des particules de silice en jouant sur les paramètres de synthèse de la microémulsion. La quantification de ces effets reste en revanche à effectuer.

7 Conclusion

Des particules de silice luminescentes ont été synthétisées par voie micellaire inverse. Deux complexes de lanthanide possédant des propriétés de luminescence remarquables ont été ainsi incorporés sans liaison covalente. Chacun des complexes a été incorporé dans des particules de silice monodisperses de deux tailles différentes à partir d'un système de microémulsion quaternaire (Triton X-100/Hexanol/Cyclohexane/Eau) et d'un système ternaire (Igepal CO-520/Cyclohexane/Eau). Les propriétés de luminescence des complexes de lanthanide sont conservées après incorporation dans les particules inorganiques, indiquant qu'il n'y a pas d'interaction avec la matrice de silice. Afin de quantifier l'efficacité du processus d'incorporation et la stabilité des complexes encapsulés, une nouvelle méthode basée sur le traçage radioactif d'un complexe d'euprium (^{152}Eu) émetteur gamma a été développée. Cette technique a permis de mettre en évidence l'importance des étapes de lavage par centrifugation et de prouver que l'ICPMS, méthode plus conventionnelle, est également adaptée pour caractériser ce type de nanoparticules. L'influence des paramètres contrôlant la croissance de la silice en microémulsion inverse sur les mécanismes d'incorporation des complexes a été étudiée. Toutes ces informations ont permis de caractériser complètement l'incorporation des deux complexes et d'expliquer les différences de comportements observés. Ainsi le complexe $[\text{Eu}(\text{tpatcn})]$, plus hydrophobe, est incorporé moins efficacement dans les particules de silice car il est majoritairement localisé à leur surface. Les rendements d'incorporation dans ce cas sont très faibles. En revanche, le complexe plus hydrophile $[\text{Tb}(\text{ebpatcn})]$ est incorporé très efficacement car il est initialement répartie de manière homogène dans les gouttelettes d'eau qui ont servi de « nano-réacteur ». Le ligand $\text{H}_3\text{ebpatcn}$ peut également sensibiliser efficacement l' Eu(III) [106]. Le processus d'incorporation n'étant pas modifié par la nature de la terre rare, il est donc possible d'ajuster l'émission des particules sous une même excitation, en jouant sur le rapport $[\text{Tb}(\text{ebpatcn})]/[\text{Eu}(\text{ebpatcn})]$. Ceci avait précédemment été démontré avec H_3tpatcn [91]. L'incorporation plus efficace de $[\text{Ln}(\text{ebpatcn})]$ permettra en revanche d'utiliser des concentrations plus importantes, et donc de créer un plus grand nombre de signaux différents. La fonctionnalisation de ces nanoparticules par des fonctions amines a également été optimisée afin de conserver leurs propriétés de luminescence.

La quantification de l'incorporation ayant finalement été maîtrisée, il pourrait être intéressant de l'utiliser pour confirmer les observations faites dans ce chapitre à partir de résultats qualitatifs. En effet la modification des paramètres de synthèse de la silice ou son ré-enrobage semble avoir des effets dans certains cas sur l'incorporation des complexes. La caractérisation et la compréhension précise de ces effets pourrait permettre d'optimiser l'incorporation sans liaison covalente. De plus la caractérisation poussée qui a été effectuée sur les protocoles de synthèse standards a permis d'étudier les effets de confinement d'un complexe $[\text{Gd}(\text{ebpatcn})]$ dans ces nanoparticules de silice comme cela sera développé au chapitre 4. La connaissance précise du nombre de complexes incorporés est alors indispensable pour pouvoir discuter des variations de relaxivité, qui sont directement liées au nombre d'ion Gd(III) .

Bibliographie du chapitre 2

1. **Diop, B.N.**, Élaboration de nanoparticules hybrides multifonctionnelles à base de silice par microémulsion inverse. Application à la conception d'un agent antibactérien. *Thèse de l'Université Claude Bernard, Lyon 1* **2010**.
2. **Stober, W., A. Fink, and E. Bohn**, Controlled Growth of Monodisperse Silica Spheres in Micron Size Range. *Journal of Colloid and Interface Science*, **1968**. 26(1): p. 62-8.
3. **Matsoukas, T. and E. Gulari**, Monomer-Addition Growth With a Slow Initiation Step - A Growth-Model for Silica Particles from Alkoxides. *Journal of Colloid and Interface Science*, **1989**. 132(1): p. 13-21.
4. **Destree, C. and J.B. Nagy**, Mechanism of formation of inorganic and organic nanoparticles from microemulsions. *Advances in Colloid and Interface Science*, **2006**. 123: p. 353-367.
5. **Bogush, G.H. and C.F. Zukoski**, Studies of the kinetics of the precipitation of uniform silica particles through the hydrolysis and condensation of silicon alkoxides. *J. Colloid Interface Sci.*, **1991**. 142: p. 1-18.
6. **Van Blaaderen, A., J. van Geest, and A. Vrij**, Monodisperse Colloidal Silica Spheres from Tetraalkoxysilanes: Particle Formation and Growth Mechanism. *J. Colloid Interface Sci.*, **1992**. 154: p. 481-501.
7. **Van Blaaderen, A. and A.P.M. Kentgens**, Particle morphology and chemical microstructure of colloidal silica spheres made from alkoxysilanes. *J. Non-Cryst. Solids.*, **1992**. 149: p. 161-178.
8. **Harris, M.T., R.R. Brunson, and C.H. Byers**, The base-catalyzed hydrolysis and condensation reactions of dilute and concentrated TEOS solutions. *J. Non-Cryst. Solids.*, **1990**. 121: p. 397-403.
9. **Boukari, H., G.G. Long, and M.T. Harris**, Polydispersity during the Formation and Growth of the Stöber Silica Particles from Small-Angle X-Ray Scattering Measurements. *J. Colloid Interface Sci.*, **2000**. 229: p. 129-139.
10. **Giesche, H.**, Synthesis of Monodispersed Silica Powders I. Particle Properties and Reaction Kinetics. *J. Eur. Ceram. Soc.*, **1994**. 14: p. 189-204.
11. **Boukari, H., J.S. Lin, and M.T. Harris**, Small-Angle X-Ray Scattering Study of the Formation of Colloidal Silica Particles from Alkoxides: Primary Particles or Not? *J. Colloid Interface Sci.*, **1997**. 194: p. 311-318.
12. **Giesche, H.**, Synthesis of Monodispersed Silica Powders II. Controlled Growth Reaction and Continuous Production Process. *J. Eur. Ceram. Soc.*, **1994**. 14: p. 205-214.
13. **Yokoi, T., Y. Sakamoto, O. Terasaki, Y. Kubota, T. Okubo, and T. Tatsumi**, Periodic arrangement of silica nanospheres assisted by amino acids. *Journal of the American Chemical Society*, **2006**. 128(42): p. 13664-13665.
14. **Hartlen, K.D., A.P.T. Athanasopoulos, and V. Kitaev**, Facile preparation of highly monodisperse small silica spheres (15 to > 200 nm) suitable for colloidal templating and formation of ordered arrays. *Langmuir*, **2008**. 24(5): p. 1714-1720.
15. **Yokoi, T., J. Wakabayashi, Y. Otsuka, W. Fan, M. Iwama, R. Watanabe, K. Aramaki, A. Shimojima, T. Tatsumi, and T. Okubo**, Mechanism of Formation of Uniform-Sized Silica Nanospheres Catalyzed by Basic Amino Acids. *Chemistry of Materials*, **2009**. 21(15): p. 3719-3729.
16. **Sager, W., F.C.,** Microemulsion Templating in Nanostructured Soft Matter, **2007**, Bristol: Springer.
17. **Hoar, T.P. and J.H. Schulman**, Transparent Water-in-Oil Dispersions: the Oleopathic Hydro-Micelle. *Nature*, **1943**. 102: p. 102-103.
18. **Schwuger, M.J., K. Stickdorn, and R. Schomacker**, Microemulsion in Technical Processes. *Chemical Reviews*, **1995**. 95(4): p. 849-864.

19. **Kumar, K.**, Handbook of microemulsion science and technology **1999**, New York: Marcel Dekker Inc.
20. **Esquena, J., T.F. Tadros, K. Kostarelos, and C. Solans**, Preparation of narrow size distribution silica particles using microemulsions. *Langmuir*, **1997**. 13(24): p. 6400-6406.
21. **Iglesias-Silva, E., J. Rivas, L.M.L. Isidro, and M.A. Lopez-Quintela**, Synthesis of silver-coated magnetite nanoparticles. *Journal of Non-Crystalline Solids*, **2007**. 353(8-10): p. 829-831.
22. **Ledo-Suarez, A., J. Rivas, C.F. Rodriguez-Abreu, M.J. Rodriguez, E. Pastor, A. Hernandez-Creus, S.B. Oseroff, and M.A. Lopez-Quintela**, Facile synthesis of stable subnanosized silver clusters in microemulsions. *Angewandte Chemie-International Edition*, **2007**. 46(46): p. 8823-8827.
23. **Tojo, C., M. de Dios, and M.A. Lopez-Quintela**, On the Structure of Bimetallic Nanoparticles Synthesized in Microemulsions. *Journal of Physical Chemistry C*, **2009**. 113(44): p. 19145-19154.
24. **Vazquez-Vazquez, C., M. Banobre-Lopez, A. Mitra, M.A. Lopez-Quintela, and J. Rivas**, Synthesis of Small Atomic Copper Clusters in Microemulsions. *Langmuir*, **2009**. 25(14): p. 8208-8216.
25. **Scano, A., G. Ennas, F. Frongia, A. La Barbera, M.A. Lopez-Quintela, G. Marongiu, G. Paschina, D. Peddis, M. Piloni, and C. Vazquez-Vazquez**, Mn-ferrite nanoparticles via reverse microemulsions: synthesis and characterization. *Journal of Nanoparticle Research*, **2011**. 13(7): p. 3063-3073.
26. **Osseo-Asare, K. and F.J. Arriagada**, Preparation of SiO₂ nanoparticles in a non-ionic reverse micellar system. *Colloids and Surfaces*, **1990**. 50(0): p. 321-339.
27. **Arriagada, F.J. and K. Osseoasare**, Phase and Dispersion Stability Effects in the Synthesis of Silica Nanoparticles in a Nonionic Reverse Microemulsion. *Colloids and Surfaces*, **1992**. 69(2-3): p. 105-115.
28. **Arriagada, F.J. and K. Osseo-Asare**, Synthesis of nanosize silica in a nonionic water-in-oil microemulsion: Effects of the water/surfactant molar ratio and ammonia concentration. *Journal of Colloid and Interface Science*, **1999**. 211(2): p. 210-220.
29. **Osseo-Asare, K. and F.J. Arriagada**, Growth kinetics of nanosize silica in a nonionic water-in-oil microemulsion: A reverse micellar pseudophase reaction model. *Journal of Colloid and Interface Science*, **1999**. 218(1): p. 68-76.
30. **Arriagada, F.J. and K. Osseo-Asare**, Controlled hydrolysis of tetraethoxysilane in a nonionic water-in-oil microemulsion: a statistical model of silica nucleation. *Colloids and Surfaces a-Physicochemical and Engineering Aspects*, **1999**. 154(3): p. 311-326.
31. **Sharma, P., S. Brown, M. Varshney, and B. Moudgil**, Surfactant-Mediated Fabrication of Optical Nanoprobes. *Adv Polym Sci.*, **2008**. 218: p. 189-233.
32. **Capek, I.**, Preparation of metal nanoparticles in water-in-oil (w / o) microemulsions. *Adv. Colloid Interface Sci.*, **2004**. 110: p. 49-74.
33. **Samuel, J.**, Synthèse et dispersion de nanoparticules luminescentes dédiées à la lutte anti-contrefaçon *Thèse de l'Université Claude Bernard, Lyon 1*, **2009**.
34. **Finnie, K.S., J.R. Bartlett, C.J.A. Barbe, and L.G. Kong**, Formation of silica nanoparticles in microemulsions. *Langmuir*, **2007**. 23(6): p. 3017-3024.
35. **Bagwe, R.P., C.Y. Yang, L.R. Hilliard, and W.H. Tan**, Optimization of dye-doped silica nanoparticles prepared using a reverse microemulsion method. *Langmuir*, **2004**. 20(19): p. 8336-8342.
36. **Suzuki, K., K. Ikari, and H. Imai**, Synthesis of silica nanoparticles having a well-ordered mesostructure using a double surfactant system. *Journal of the American Chemical Society*, **2004**. 126(2): p. 462-463.
37. **Westcott, S.L., S.J. Oldenburg, T.R. Lee, and N.J. Halas**, Formation and adsorption of clusters of gold nanoparticles onto functionalized silica nanoparticle surfaces. *Langmuir*, **1998**. 14(19): p. 5396-5401.

38. **Yamauchi, H., T. Ishikawa, and S. Kondo**, Surface Characterization of Ultramicro Spherical-Particles of Silica Prepared by W/O Microemulsion Method. *Colloids and Surfaces*, **1989**. 37: p. 71-80.
39. **Piao, Y., A. Burns, J. Kim, U. Wiesner, and T. Hyeon**, Designed Fabrication of Silica-Based Nanostructured Particle Systems for Nanomedicine Applications. *Advanced Functional Materials*, **2008**. 18(23): p. 3745-3758.
40. **Hu, H., L. Xiong, J. Zhou, F. Li, T. Cao, and C. Huang**, Multimodal-Luminescence Core-Shell Nanocomposites for Targeted Imaging of Tumor Cells. *Chemistry-a European Journal*, **2009**. 15(14): p. 3577-3584.
41. **Reiss, P., M. Protière, and L. Li**, Core/Shell Semiconductor Nanocrystals. *Small*, **2009**. 5(2): p. 154-168.
42. **Kang, S.M., K.B. Lee, D.J. Kim, and I.S. Choi**, Biomimetic approach to the formation of gold nanoparticle/silica core/shell structures and subsequent bioconjugation. *Nanotechnology*, **2006**. 17(18): p. 4719-4725.
43. **Bridot, J.L., A.C. Faure, S. Laurent, C. Riviere, C. Billotey, B. Hiba, M. Janier, V. Josserand, J.L. Coll, L. Vander Elst, R. Muller, S. Roux, P. Perriat, and O. Tillement**, Hybrid gadolinium oxide nanoparticles: Multimodal contrast agents for in vivo imaging. *Journal of the American Chemical Society*, **2007**. 129(16): p. 5076-5084.
44. **Debouttiere, P.-J., S. Roux, F. Vocanson, C. Billotey, O. Beuf, A. Favre-Reguillon, Y. Lin, S. Pellet-Rostaing, R. Lamartine, P. Perriat, and O. Tillement**, Design of gold nanoparticles for magnetic resonance imaging. *Advanced Functional Materials*, **2006**. 16(18): p. 2330-2339.
45. **Malinge, J., C. Allain, L. Galmiche, F. Miomandre, and P. Audebert**, Preparation, Photophysical, Electrochemical, and Sensing Properties of Luminescent Tetrazine-Doped Silica Nanoparticles. *Chemistry of Materials*, **2011**. 23(20): p. 4599-4605.
46. **Van Blaaderen, A. and A. Vrij**, Synthesis and Characterization of Colloidal Dispersions of Fluorescent, Monodisperse Silica Spheres. *Langmuir*, **1992**. 8(12): p. 2921-2931.
47. **Lee, M.H., F.L. Beyer, and E.M. Furst**, Synthesis of monodisperse fluorescent core-shell silica particles using a modified Stober method for imaging individual particles in dense colloidal suspensions. *Journal of Colloid and Interface Science*, **2005**. 288(1): p. 114-123.
48. **Verhaegh, N.A.M. and A. Van Blaaderen**, Dispersions of Rhodamine-Labeled Silica Spheres - Synthesis, Characterization, and Fluorescence Confocal Scanning Laser Microscopy. *Langmuir*, **1994**. 10(5): p. 1427-1438.
49. **Shibata, S., T. Taniguchi, T. Yano, and M. Yamane**, Formation of Water-Soluble Dye-Doped Silica Particles. *Journal of Sol-Gel Science and Technology*, **1997**. 10(3): p. 263-268.
50. **Bringley, J.F., T.L. Penner, R.Z. Wang, J.F. Harder, W.J. Harrison, and L. Buonemani**, Silica nanoparticles encapsulating near-infrared emissive cyanine dyes. *Journal of Colloid and Interface Science*, **2008**. 320(1): p. 132-139.
51. **Wang, L., K.M. Wang, S. Santra, X.J. Zhao, L.R. Hilliard, J.E. Smith, J.R. Wu, and W.H. Tan**, Watching silica nanoparticles glow in the biological world. *Analytical Chemistry*, **2006**. 78(3): p. 646-654.
52. **Ow, H., D.R. Larson, M. Srivastava, B.A. Baird, W.W. Webb, and U. Wiesner**, Bright and stable core-shell fluorescent silica nanoparticles. *Nano Letters*, **2005**. 5(1): p. 113-117.
53. **Larson, D.R., H. Ow, H.D. Vishwasrao, A.A. Heikal, U. Wiesner, and W.W. Webb**, Silica nanoparticle architecture determines radiative properties of encapsulated fluorophores. *Chemistry of Materials*, **2008**. 20(8): p. 2677-2684.
54. **Herz, E., A. Burns, D. Bonner, and U. Wiesner**, Large Stokes-Shift Fluorescent Silica Nanoparticles with Enhanced Emission Over Free Dye for Single Excitation Multiplexing. *Macromolecular Rapid Communications*, **2009**. 30(22): p. 1907-1910.
55. **Canton, G., R. Ricco, F. Marinello, S. Carmignato, and F. Enrichi**, Modified Stober synthesis of highly luminescent dye-doped silica nanoparticles. *Journal of Nanoparticle Research*, **2011**. 13(9): p. 4349-4356.

56. **Durgun, G., K. Ocakoglu, and S. Ozcelik**, Systematic Tuning the Hydrodynamic Diameter of Uniformed Fluorescent Silica Nanoparticles. *Journal of Physical Chemistry C*, **2011**. 115(33): p. 16322-16332.
57. **Pinho, S.L.C., H. Faneca, C. Geraldés, J. Rocha, L.D. Carlos, and M.H. Delville**, Silica Nanoparticles for Bimodal MRI-Optical Imaging by Grafting Gd³⁺ and Eu³⁺/Tb³⁺ Complexes. *European Journal of Inorganic Chemistry*, **2012**(16): p. 2828-2837.
58. **Pinho, S.L.C., H. Faneca, C. Geraldés, M.H. Delville, L.D. Carlos, and J. Rocha**, Lanthanide-DTPA grafted silica nanoparticles as bimodal-imaging contrast agents. *Biomaterials*, **2012**. 33(3): p. 925-935.
59. **Ha, S.-W., C.E. Camalier, G.R. Beck, Jr., and J.-K. Lee**, New method to prepare very stable and biocompatible fluorescent silica nanoparticles. *Chemical Communications*, **2009**(20): p. 2881-2883.
60. **Labeguerie-Egea, J., H.M. McEvoy, and C. McDonagh**, Synthesis, characterisation and functionalisation of luminescent silica nanoparticles. *Journal of Nanoparticle Research*, **2011**. 13(12): p. 6455-6465.
61. **Bae, S.W., W.H. Tan, and J.I. Hong**, Fluorescent dye-doped silica nanoparticles: new tools for bioapplications. *Chemical Communications*, **2012**. 48(17): p. 2270-2282.
62. **Senarath-Yapa, M.D., S. Phimpivong, J.W. Coym, M.J. Wirth, C.A. Aspinwall, and S.S. Saavedra**, Preparation and characterization of poly(lipid)-coated, fluorophore-doped silica nanoparticles for biolabeling and cellular imaging. *Langmuir*, **2007**. 23(25): p. 12624-12633.
63. **Ethiraj, A.S., N. Hebalkar, S. Kharrazi, J. Urban, S.R. Sainkar, and S.K. Kulkarni**, Photoluminescent core-shell particles of organic dye in silica. *Journal of Luminescence*, **2005**. 114(1): p. 15-23.
64. **Auger, A., J. Samuel, O. Poncelet, and O. Raccurt**, A comparative study of non-covalent encapsulation methods for organic dyes into silica nanoparticles. *Nanoscale Research Letters*, **2011**. 6.
65. **Zhao, X.J., R.P. Bagwe, and W.H. Tan**, Development of organic-dye-doped silica nanoparticles in a reverse microemulsion. *Advanced Materials*, **2004**. 16(2): p. 173-+.
66. **Latterini, L. and M. Amelia**, Sensing Proteins with Luminescent Silica Nanoparticles. *Langmuir*, **2009**. 25(8): p. 4767-4773.
67. **Lian, W., S.A. Litherland, H. Badrane, W.H. Tan, D.H. Wu, H.V. Baker, P.A. Gulig, D.V. Lim, and S.G. Jin**, Ultrasensitive detection of biomolecules with fluorescent dye-doped nanoparticles. *Analytical Biochemistry*, **2004**. 334(1): p. 135-144.
68. **Santra, S., P. Zhang, K.M. Wang, R. Tapeç, and W.H. Tan**, Conjugation of biomolecules with luminophore-doped silica nanoparticles for photostable biomarkers. *Analytical Chemistry*, **2001**. 73(20): p. 4988-4993.
69. **Cousinie, S., M. Gressier, C. Reber, J. Dexpert-Ghys, and M.J. Menu**, Europium(III) complexes containing organosilylpyridine ligands grafted on silica nanoparticles. *Langmuir*, **2008**. 24(12): p. 6208-6214.
70. **Cousinie, S., L. Maulline, M. Gressier, S.R. Kandibanda, L. Datas, C. Reber, and M.J. Menu**, Bulk or surface grafted silylated Ru(II) complexes on silica as luminescent nanomaterials. *New Journal of Chemistry*, **2012**. 36(6): p. 1355-1367.
71. **Duarte, A.P., M. Gressier, M.J. Menu, J. Dexpert-Ghys, J.M.A. Caiut, and S.J.L. Ribeiro**, Structural and Luminescence Properties of Silica-Based Hybrids Containing New Silylated-Diketonato Europium(III) Complex. *Journal of Physical Chemistry C*, **2012**. 116(1): p. 505-515.
72. **Li, H.R., J. Lin, H.J. Zhang, L.S. Fu, Q.G. Meng, and S.B. Wang**, Preparation and Luminescence Properties of Hybrid Materials Containing Europium(III) Complexes Covalently Bonded to a Silica Matrix. *Chemistry of Materials*, **2002**. 14(9): p. 3651-3655.
73. **Hai, X.D., M.Q. Tan, G. Wang, Z.Q. Ye, J.L. Yuan, and K. Matsumoto**, Preparation and a time-resolved fluoroimmunoassay application of new europium fluorescent nanoparticles. *Analytical Sciences*, **2004**. 20(2): p. 245-246.

74. **Tan, M.Q., G.L. Wang, X.D. Hai, Z.Q. Ye, and J.L. Yuan**, Development of functionalized fluorescent europium nanoparticles for biolabeling and time-resolved fluorometric applications. *Journal of Materials Chemistry*, **2004**. 14(19): p. 2896-2901.
75. **Ning, Q., J. Meng, H. Wang, Y. Liu, and S. Man**, Novel Terbium Chelate Doped Fluorescent Silica Nanoparticles. *Journal of Rare Earths*, **2006**. 24(2): p. 193-196.
76. **Xu, Y. and Q.G. Li**, Multiple fluorescent labeling of silica nanoparticles with lanthanide chelates for highly sensitive time-resolved Immunofluorometric assays. *Clinical Chemistry*, **2007**. 53(8): p. 1503-1510.
77. **Zhang, H., Y. Xu, W. Yang, and Q.G. Li**, Dual-lanthanide-chelated silica nanoparticles as labels for highly sensitive time-resolved fluorometry. *Chemistry of Materials*, **2007**. 19(24): p. 5875-5881.
78. **Wu, J., G.L. Wang, D.Y. Jin, J.L. Yuan, Y.F. Guan, and J. Piper**, Luminescent europium nanoparticles with a wide excitation range from UV to visible light for biolabeling and time-gated luminescence bioimaging. *Chemical Communications*, **2008**(3): p. 365-367.
79. **Ai, K.L., B.H. Zhang, and L.H. Lu**, Europium-Based Fluorescence Nanoparticle Sensor for Rapid and Ultrasensitive Detection of an Anthrax Biomarker. *Angewandte Chemie-International Edition*, **2009**. 48(2): p. 304-308.
80. **Guo, X., H. Guo, L. Fu, L.D. Carlos, R.A.S. Ferreira, L. Sun, R. Deng, and H. Zhang**, Novel Near-Infrared Luminescent Hybrid Materials Covalently Linking with Lanthanide [Nd(III), Er(III), Yb(III), and Sm(III)] Complexes via a Primary β -Diketone Ligand: Synthesis and Photophysical Studies. *The Journal of Physical Chemistry C*, **2009**. 113(28): p. 12538-12545.
81. **Guo, X.M., J.L. Canet, D. Boyer, A. Gautier, and R. Mahiou**, Sol-gel emulsion synthesis of biphotonic core-shell nanoparticles based on lanthanide doped organic-inorganic hybrid materials. *Journal of Materials Chemistry*, **2012**. 22(13): p. 6117-6122.
82. **Wu, J., Z. Ye, G. Wang, D. Jin, J. Yuan, Y. Guan, and J. Piper**, Visible-light-sensitized highly luminescent europium nanoparticles: preparation and application for time-gated luminescence bioimaging. *Journal of Materials Chemistry*, **2009**. 19(9): p. 1258-1264.
83. **Ye, Z., M. Tan, G. Wang, and J. Yuan**, Novel fluorescent europium chelate-doped silica nanoparticles: preparation, characterization and time-resolved fluorometric application. *Journal of Materials Chemistry*, **2004**. 14(5): p. 851-856.
84. **Ye, Z.Q., M.Q. Tan, G.L. Wang, and J.L. Yuan**, Preparation, characterization, and time-resolved fluorometric application of silica-coated terbium(III) fluorescent nanoparticles. *Analytical Chemistry*, **2004**. 76(3): p. 513-518.
85. **Chen, Y. and Z. Lu**, Dye sensitized luminescent europium nanoparticles and its time-resolved fluorometric assay for DNA. *Analytica Chimica Acta*, **2007**. 587(2): p. 180-186.
86. **Fedorenko, S.V., O.D. Bochkova, A.R. Mustafina, V.A. Burilov, M.K. Kadirov, C.V. Holin, I.R. Nizameev, V.V. Skripacheva, A.Y. Menshikova, I.S. Antipin, and A.I. Konovalov**, Dual Visible and Near-Infrared Luminescent Silica Nanoparticles. Synthesis and Aggregation Stability. *Journal of Physical Chemistry C*, **2010**. 114(14): p. 6350-6355.
87. **Eliseeva, S.V., B. Song, C.D.B. Vandevyver, A.S. Chauvin, J.B. Wacker, and J.C.G. Bunzli**, Increasing the efficiency of lanthanide luminescent bioprobes: bioconjugated silica nanoparticles as markers for cancerous cells. *New Journal of Chemistry*, **2010**. 34(12): p. 2915-2921.
88. **Ye, Z.Q., M.Q. Tan, G.L. Wang, and J.L. Yuan**, Novel fluorescent europium chelate-doped silica nanoparticles: preparation, characterization and time-resolved fluorometric application. *Journal of Materials Chemistry*, **2004**. 14(5): p. 851-856.
89. **Chen, Y., Y. Chi, H. Wen, and Z. Lu**, Sensitized Luminescent Terbium Nanoparticles: Preparation and Time-Resolved Fluorescence Assay for DNA. *Analytical Chemistry*, **2007**. 79(3): p. 960-965.
90. **Iwu, K.O., P.C.R. Soares-Santos, H.I.S. Nogueira, L.D. Carlos, and T. Trindade**, Nanoencapsulation of Luminescent 3-Hydroxypicolinate Lanthanide Complexes. *Journal of Physical Chemistry C*, **2009**. 113(18): p. 7567-7573.

91. **Samuel, J., G. Tallec, P. Cherns, W.L. Ling, O. Raccurt, O. Poncelet, D. Imbert, and M. Mazzanti**, Lanthanide-chelate silica nanospheres as robust multicolor Vis-NIR tags. *Chemical Communications*, **2010**. 46(15): p. 2647-2649.
92. **Matthews, L.R. and E.T. Knobbe**, Luminescence Behavior of Europium Complexes in Sol-Gel Derived Host Materials. *Chemistry of Materials*, **1993**. 5(12): p. 1697-1700.
93. **Corriu, R.J.P., F. Embert, Y. Guari, A. Mehdi, and C. Reye**, A simple route to organic-inorganic hybrid materials containing Eu³⁺ complexes. *Chemical Communications*, **2001**(12): p. 1116-1117.
94. **Franville, A.C., R. Mahiou, D. Zambon, and J.C. Cousseins**, Molecular design of luminescent organic-inorganic hybrid materials activated by europium (III) ions. *Solid State Sciences*, **2001**. 3(1-2): p. 211-222.
95. **Hernandez, R., A.C. Franville, P. Minoofar, B. Dunn, and J.I. Zink**, Controlled placement of luminescent molecules and polymers in mesostructured sol-gel thin films. *Journal of the American Chemical Society*, **2001**. 123(6): p. 1248-1249.
96. **Franville, A.C., D. Zambon, R. Mahiou, and Y. Troin**, Luminescence behavior of sol-gel-derived hybrid materials resulting from covalent grafting of a chromophore unit to different organically modified alkoxysilanes. *Chemistry of Materials*, **2000**. 12(2): p. 428-435.
97. **Franville, A.C., D. Zambon, R. Mahiou, S. Chou, Y. Troin, and J.C. Cousseins**, Synthesis and optical features of an europium organic-inorganic silicate hybrid. *Journal of Alloys and Compounds*, **1998**. 275: p. 831-834.
98. **Bunzli, J.C.G. and C. Piguet**, Taking advantage of luminescent lanthanide ions. *Chemical Society Reviews*, **2005**. 34(12): p. 1048-1077.
99. **Andreiadis, E.S., D. Imbert, J. Pecaut, R. Demadrille, and M. Mazzanti**, Self-assembly of highly luminescent lanthanide complexes promoted by pyridine-tetrazolate ligands. *Dalton Transactions*, **2012**. 41(4): p. 1268-1277.
100. **Parker, D., R.S. Dickins, H. Puschmann, C. Crossland, and J.A.K. Howard**, Being excited by lanthanide coordination complexes: Aqua species, chirality, excited-state chemistry, and exchange dynamics. *Chemical Reviews*, **2002**. 102(6): p. 1977-2010.
101. **Ye, Z., M. Tan, G. Wang, and J. Yuan**, Preparation, Characterization, and Time-Resolved Fluorometric Application of Silica-Coated Terbium(III) Fluorescent Nanoparticles. *Analytical Chemistry*, **2004**. 76(3): p. 513-518.
102. **Tan, M.Q., Z.Q. Ye, G.L. Wang, and J.L. Yuan**, Preparation and time-resolved fluorometric application of luminescent europium nanoparticles. *Chemistry of Materials*, **2004**. 16(12): p. 2494-2498.
103. **Nonat, A., C. Gateau, P.H. Fries, and M. Mazzanti**, Lanthanide Complexes of a Picolinate Ligand Derived from 1,4,7-Triazacyclononane with Potential Application in Magnetic Resonance Imaging and Time-Resolved Luminescence Imaging. *Chemistry – A European Journal*, **2006**. 12(27): p. 7133-7150.
104. **Gateau, C., M. Mazzanti, J. Pecaut, F.A. Dunand, and L. Helm**, Solid-state and solution properties of the lanthanide complexes of a new tripodal ligand derived from 1,4,7-triazacyclononane. *Dalton Transactions*, **2003**(12): p. 2428-2433.
105. **Nonat, A.**, Complexes de Lanthanides(III) pour le Développement de Nouvelles Sondes Magnétiques et Luminescentes. *Thèse de l'Université Joseph Fourier, Grenoble 1* **2007**.
106. **Nonat, A., M. Giraud, C. Gateau, P.H. Fries, L. Helm, and M. Mazzanti**, Gadolinium(III) complexes of 1,4,7-triazacyclononane based picolinate ligands: simultaneous optimization of water exchange kinetics and electronic relaxation. *Dalton Transactions*, **2009**(38): p. 8033-8046.
107. **Zhao, F., Y. Zhao, Y. Liu, X.L. Chang, C.Y. Chen, and Y.L. Zhao**, Cellular Uptake, Intracellular Trafficking, and Cytotoxicity of Nanomaterials. *Small*, **2011**. 7(10): p. 1322-1337.
108. **Egan, R.W., M.A. Jones, and A.L. Lehninger**, Hydrophile-Lipophile Balance and Critical Micelle Concentration as Key Factors Influencing Surfactant Disruption of Mitochondrial-Membranes. *Journal of Biological Chemistry*, **1976**. 251(14): p. 4442-4447.

109. **Kumar, C. and D. Balasubramanian**, Studies on the Triton X-100 - Alcohol - Water Reverse Micelles in Cyclohexane. *Journal of Colloid and Interface Science*, **1979**. 69(2): p. 271-279.
110. **Chang, C.L. and H.S. Fogler**, Controlled formation of silica particles from tetraethyl orthosilicate in nonionic water-in-oil microemulsions. *Langmuir*, **1997**. 13(13): p. 3295-3307.
111. **Pereira, J.S.F., C.L. Knorr, L.S.F. Pereira, D.P. Moraes, J.N.G. Paniz, E.M.M. Flores, and G. Knapp**, Evaluation of sample preparation methods for polymer digestion and trace elements determination by ICPMS and ICPOES. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, **2011**. 26(9): p. 1849-1857.
112. **Hagendorfer, H., R. Kaegi, J. Traber, S.F.L. Mertens, R. Scherrers, C. Ludwig, and A. Ulrich**, Application of an asymmetric flow field flow fractionation multi-detector approach for metallic engineered nanoparticle characterization - Prospects and limitations demonstrated on Au nanoparticles. *Analytica Chimica Acta*, **2011**. 706(2): p. 367-378.
113. **Degueldre, C. and P.Y. Favarger**, Colloid analysis by single particle inductively coupled plasma-mass spectroscopy: a feasibility study. *Colloids and Surfaces a-Physicochemical and Engineering Aspects*, **2003**. 217(1-3): p. 137-142.
114. **Hasseloev, M., J.W. Readman, J.F. Ranville, and K. Tiede**, Nanoparticle analysis and characterization methodologies in environmental risk assessment of engineered nanoparticles. *Ecotoxicology*, **2008**. 17(5): p. 344-361.
115. **Krystek, P., A. Ulrich, C.C. Garcia, S. Manohar, and R. Ritsema**, Application of plasma spectrometry for the analysis of engineered nanoparticles in suspensions and products. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, **2011**. 26(9): p. 1701-1721.
116. **Tiede, K., A.B.A. Boxall, S.P. Tear, J. Lewis, H. David, and M. Hasselov**, Detection and characterization of engineered nanoparticles in food and the environment. *Food Additives and Contaminants Part a-Chemistry Analysis Control Exposure & Risk Assessment*, **2008**. 25(7): p. 795-821.
117. **Kaneco, S., T. Nomizu, T. Tanaka, N. Mizutani, and H. Kawaguchi**, Optimization of Operating-Conditions in Individual Airborne Particle Analysis by Inductively-Coupled Plasma-Mass Spectrometry. *Analytical Sciences*, **1995**. 11(5): p. 835-840.
118. **Nomizu, T., H. Nakashima, Y. Hotta, T. Tanaka, and H. Kawaguchi**, Simultaneous Measurement of the Elemental Content and Size of Airborne Particles by Inductively Coupled Plasma Emission-Spectrometry Combined with the Laser-Light Scattering Method. *Analytical Sciences*, **1992**. 8(4): p. 527-531.
119. **Laborda, F., J. Jimenez-Lamana, E. Bolea, and J.R. Castillo**, Selective identification, characterization and determination of dissolved silver(I) and silver nanoparticles based on single particle detection by inductively coupled plasma mass spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, **2011**. 26(7): p. 1362-1371.
120. **Ulrich, A., S. Losert, N. Bendixen, A. Al-Kattan, H. Hagendorfer, B. Nowack, C. Adlhart, J. Ebert, M. Lattuada, and K. Hungerbühler**, Critical aspects of sample handling for direct nanoparticle analysis and analytical challenges using asymmetric field flow fractionation in a multi-detector approach. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, **2012**. 27(7): p. 1120-1130.
121. **Prichard, E. and G.M. Mackay**, Inorganic Analytes, Sample Preparation in Trace Analysis: A Structured Approach to Obtaining Reliable Results **1996**, Cambridge: Royal Society of Chemistry.
122. **Totland, M., I. Jarvis, and K.E. Jarvis**, An Assessment of Dissolution Techniques for the Analysis of Geological Samples by Plasma Spectrometry. *Chemical Geology*, **1992**. 95(1-2): p. 35-62.
123. **Ardini, F., F. Soggia, F. Rugi, R. Udisti, and M. Grotti**, Conversion of rare earth elements to molecular oxide ions in a dynamic reaction cell and consequences on their determination by inductively coupled plasma mass spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, **2010**. 25(10): p. 1588-1597.

124. **Fernandez-Ruiz, R., P. Ocon, and M. Montiel**, First approximation to the analysis of Ru and Se in carbon nanoparticles as a new voltaic pile system by TXRF. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, **2009**. 24(6): p. 785-791.
125. **Charlton, J.S.** Radioisotope techniques for the investigation of process problems in the chemical industry in *Industrial Application of Radioisotopes and Radioation Technology*. **1981**. Grenoble: IAEA.
126. **Gondouin, M., J.J. Comier, and P. Thibierge**. Etude du champ pétrolifère d'Hassi Messaoud par injection de méthane, éthane, propane et butane tritiés. in *Radioisotope Tracers in Industry and Geophysics* **1966**. Prague: IAEA.
127. **Werner, H.W.**, Analytical assistance in semiconductor and electronic material technology. *Anal. Chem.*, **1983**. 314: p. 274.
128. **Gilath, C.**, Ventilation and air pollution studies using radioactive tracers, a critical review. *Int. J. Appl. Radiat. Isot.*, **1977**. 28: p. 847.
129. **Calhoun, T.G. and G.T. Hurford**, Case history of radioactive tracers and techniques in FairWay Field. *Society of Petroleum Engineers of AIME*, **1970**.
130. Guidebook on Radioisotope Tracers in Industry. Technical Reports Series **1990**: International Atomic Energy Agency.
131. **Wu, Z.J., H. Xiang, T. Kim, M.S. Chun, and K. Lee**, Surface properties of submicrometer silica spheres modified with aminopropyltriethoxysilane and phenyltriethoxysilane. *Journal of Colloid and Interface Science*, **2006**. 304(1): p. 119-124.
132. **Badley, R.D., W.T. Ford, F.J. McEnroe, and R.A. Assink**, Surface Modification of Colloidal Silica. *Langmuir*, **1990**. 6(4): p. 792-801.
133. **Krysztalkiewicz, A., T. Jesionowski, and S. Binkowski**, Precipitated silicas modified with 3-aminopropyltriethoxysilane. *Colloids and Surfaces a-Physicochemical and Engineering Aspects*, **2000**. 173(1-3): p. 73-84.
134. **Bagwe, R.P., L.R. Hilliard, and W.H. Tan**, Surface modification of silica nanoparticles to reduce aggregation and nonspecific binding. *Langmuir*, **2006**. 22(9): p. 4357-4362.
135. **An, Y.Q., M. Chen, Q.J. Xue, and W.M. Liu**, Preparation and self-assembly of carboxylic acid-functionalized silica. *Journal of Colloid and Interface Science*, **2007**. 311(2): p. 507-513.
136. **Deng, G., M.A. Markowitz, P.R. Kust, and B.P. Gaber**, Control of surface expression of functional groups on silica particles. *Materials Science & Engineering C-Biomimetic and Supramolecular Systems*, **2000**. 11(2): p. 165-172.
137. **Henry, A.C., T.J. Tutt, M. Galloway, Y.Y. Davidson, C.S. McWhorter, S.A. Soper, and R.L. McCarley**, Surface modification of poly(methyl methacrylate) used in the fabrication of microanalytical devices. *Analytical Chemistry*, **2000**. 72(21): p. 5331-5337.
138. **Vanhelden, A.K., J.W. Jansen, and A. Vrij**, Preparation and Characterization of Spherical Monodisperse Silica Dispersions in Non-Aqueous Solvents. *Journal of Colloid and Interface Science*, **1981**. 81(2): p. 354-368.
139. **Bogush, G.H., M.A. Tracy, and C.F. Zukoski**, Preparation of Monodisperse Silica Particles - Control of Size and Mass Fraction. *Journal of Non-Crystalline Solids*, **1988**. 104(1): p. 95-106.
140. **Brinker, C.J.**, Sol-Gel Science **1990**, San Diego: Academic Press.
141. **Iler, R.K.**, The Chemistry of Silica **1979** New York: Wiley.
142. **Greenberg, S.A.**, Thermodynamic Functions for the Solution of Silica in Water. *Journal of Physical Chemistry*, **1957**. 61(2): p. 196-197.

Chapitre 3 : Nanoparticules de latex luminescentes

Table des matières

1. Introduction	126
1.1 Polymères et organolanthanides	126
1.2 Polymérisation en milieu dispersé : les latex	129
2. Polymérisation en émulsion	131
3. Polymérisation en miniémulsion	134
3.1 Définition	134
3.2 Encapsulation de composés organiques et inorganiques par polymérisation en miniémulsion	138
3.2.1 Encapsulation de solides inorganiques.....	138
3.2.2 Elaboration de nanocapsules à coeur huileux et à écorce polymère.....	140
3.2.3 Encapsulation de molécules organiques luminescentes.....	141
3.3 Conclusion.....	145
4. Incorporation de complexes de lanthanides dans des particules de latex par polymérisation en miniémulsion	146
4.1 Présentation du protocole de synthèse.....	147
4.1.1 Formulation.....	147
4.1.2 Formation de miniémulsions.....	148
4.1.3 Polymérisation de la miniémulsion.....	150
4.2 Synthèse et caractérisation des organolanthanides	151
4.2.1 Complexes à caractère « non-ionique ».....	152
4.2.2 Complexe à caractère « ionique ».....	154
4.3 Cas de l'incorporation des organolanthanides « non-ioniques ».....	155
4.3.1 Synthèse des particules de latex	155
4.3.2 Propriétés de luminescence des particules de latex.....	163
4.4 Cas de l'incorporation d'un organolanthanide à caractère « ionique »	166
4.4.1 Synthèse des particules de latex.....	166
4.4.2 Propriétés de luminescence des particules de latex.....	167
4.5 Conclusion.....	170
5. Etude de l'incorporation d'un organolanthanide « ionique »	171
5.1 Influence de la nature du tensioactif.....	171
5.1.1 Polymérisations stabilisées par des tensioactifs cationiques et non-ioniques.....	171
5.1.2 Propriétés de luminescence des particules de latex.....	174
5.1.3 Evaluation du partage de l'euprémium entre les phases aqueuses et organiques.....	175
5.2 Caractérisation du système CTAB/PMMA/Eu(pytz) ₃ (NHOct ₃) ₃	178
5.2.1 Influence de la teneur en complexe.....	178
5.2.2 Mesure de l'efficacité d'incorporation des complexes de lanthanide.....	184
5.2.3 Influence de la teneur en complexe sur les propriétés de luminescence des particules de latex.....	186
5.2.4 Etude de la stabilité des particules de latex vis à vis du relargage des complexes..	187
6. Conclusion	190
Bibliographie du chapitre 3	192

Chapitre 3: Nanoparticules de latex luminescentes

1 Introduction

1.1 Polymères et organolanthanides

Les matériaux polymères constituent l'une des principales classes de matériaux avec les métaux, les céramiques et les verres. Depuis les années 1950 la production de polymère est en continuelle ascension. Cette production croissante résulte d'une utilisation accrue dans le monde moderne pour des applications diverses et variées dont les principales sont l'emballage, le bâtiment et les transports. En effet les polymères sont faciles à mettre en forme et offrent donc une flexibilité d'utilisation unique. Cette propriété remarquable a incité le développement d'un grand nombre de procédés de mise en forme (extrusion, moulage, injection...) afin de répondre aux attentes des industriels. La forme des matériaux polymères peut ainsi être ajustée à souhait en fonction de la technique utilisée. Ceci explique que ce matériau soit omniprésent dans notre quotidien et qu'il soit utilisé dans de nombreux domaines, mais ce n'est pas la seule raison de son succès. En effet les propriétés des matériaux polymères peuvent également être largement ajustées en fonction des polymères utilisés. Ainsi en choisissant judicieusement un polymère donné ou une combinaison de polymères il est possible d'obtenir des matériaux souples, rigides, élastiques, adhésifs, transparents ou opaques. Les matériaux polymères sont de plus généralement moins chers à synthétiser que les verres ou les céramiques. Enfin un autre avantage non négligeable est leur faible densité par rapport aux verres ou aux métaux. Il est ainsi possible de créer des matériaux polymères qui sont bien plus légers que ces autres types de matériaux, tout en présentant les mêmes propriétés. Leurs propriétés peuvent notamment être ajustées en ajoutant des molécules ou des particules spécifiques. En raison d'un gain en densité, de la facilité de mise en œuvre et du nombre important des propriétés impliquées, les matériaux conventionnels ont été largement remplacés par les polymères synthétiques.

Les perspectives offertes par les matériaux polymères sont donc particulièrement intéressantes, notamment dans le domaine de l'optique où la possibilité d'obtenir un matériau transparent, et de forme modulable représente un gros avantage. La possibilité de combiner les propriétés de luminescence remarquables des organolanthanides (chapitre 1) avec celles des polymères a donc reçu un intérêt important. Les premières expériences sur ce sujet ont été menées sur des matériaux pour l'optique à base de β -dicétones de lanthanide dans les années 1960 pour des applications dans les lasers [1, 2]. Ainsi plusieurs polymères contenant des organolanthanides (PMMA, polystyrène ou encore résines époxy) ont été formulés pour cette application. Ce n'est que 30 ans plus tard que de nouveaux travaux sur les polymères dopés par des organolanthanides luminescents ont été entrepris. Ces matériaux présentent en effet un réel intérêt dans le domaine de l'optique et de l'optoélectronique: diodes électroluminescentes, amplificateurs optiques ou encore guides d'onde optique [2]. Leur utilisation connaît aujourd'hui également un engouement croissant dans le domaine de l'imagerie médicale [3].

Les complexes de lanthanide peuvent être incorporés dans de nombreux polymères par différentes méthodes. Il convient tout d'abord de différencier les cas où le complexe de lanthanide est simplement mélangé au polymère sans lien covalent, et les cas où il fait partie intégrante du polymère et est lié de manière covalente à ce dernier.

Dans la première configuration, deux techniques peuvent être utilisées. La première consiste à dissoudre le complexe directement dans le monomère et à polymériser ensuite cette solution. La deuxième technique consiste à dissoudre le polymère seul et l'organolanthanide dans un co-solvant. Le solvant est ensuite évaporé et un polymère dopé de manière homogène est obtenu. La quantité de dopant pouvant être ainsi incorporé est limitée et est conditionnée par la solubilité du complexe de lanthanide dans le monomère et/ou polymère. Au-delà de cette limite, un phénomène d'agrégation est généralement observé, ce qui nuit à la qualité optique du film de polymère ainsi formé [1]. Les β -dicétones de lanthanide ont beaucoup été utilisées du fait de leur grande solubilité dans les polymères et de leurs bonnes propriétés de luminescence. De nombreuses études sur ce type de complexe sont rapportées dans la littérature principalement avec le PMMA [4, 5]. Il a été notamment montré que l'intensité de luminescence de la terre rare dépendait du polymère utilisé. Une des limitations de cette méthode de dopage est l'agrégation du complexe à partir d'une certaine concentration, ce qui réduit les performances en luminescence dû au phénomène de quenching.

Dans la deuxième configuration, le complexe de lanthanide fait partie intégrante du polymère. En effet si l'organolanthanide possède une fonction polymérisable, il peut être co-polymérisé avec un autre monomère. Le complexe fait alors partie intégrante de la chaîne polymère ou y est greffé. Une autre solution est d'utiliser une chaîne polymère qui puisse complexer directement un sel de terre rare. Ainsi Binnemans K. [6], a par exemple lié de manière covalente un complexe d'euporium à une résine de Merrifield fonctionnalisée par une amino-phénanthroline (Figure 70).

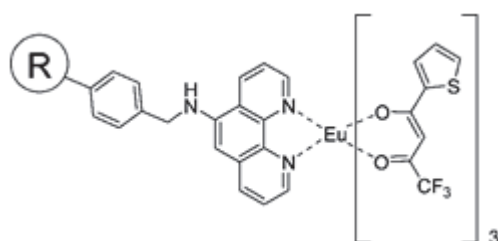


Figure 70 Complexe d'euporium lié à une résine de Merrifield [6].

Ueba et al. [7] ont quant à eux synthétisé des polymères de β -dicétones à base d'euporium en fixant directement l'ion euporium sur la chaîne polymère à partir du sel de la terre rare. Les structures chimiques des polymères étudiés sont présentées à la Figure 71.

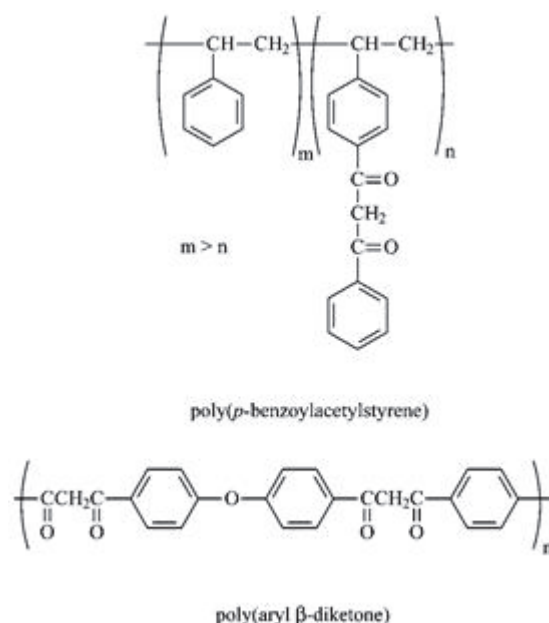


Figure 71 Exemples de polymères de β-dicétones utilisés pour former des complexes d'euprium in situ par simple réaction avec le sel de terre rare [7].

Une autre configuration envisageable est bien illustrée par Wang et al. [8]. Ces derniers ont synthétisé une résine luminescente par copolymérisation radicalaire du styrène et du méthacrylate de méthyle en présence de différents complexes d'euprium et de terbium. La chaîne polymère complète la sphère de coordination du métal comme représenté sur la Figure 72. Dans ce cas-là le phénomène de quenching n'est pas observé car les complexes d'euprium sont répartis uniformément le long de la chaîne polymère limitant ainsi les interactions Eu^{3+} - Eu^{3+} .

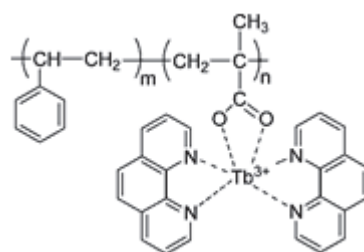


Figure 72 Complexe de Terbium lié à un copolymère à base de styrène et de méthacrylate de méthyle via la fonction méthacrylate [8].

L'article de revue de Binnemans K. [1] donne un aperçu complet des différentes études sur les films polymères dopés par des complexes d'organolanthanide et les lecteurs intéressés pourront s'y reporter pour plus de détails.

Les exemples précités traitent de polymérisations en masse, principalement pour la production de films déposés par spin-coating. Dans le cadre de cette thèse, l'objectif est de synthétiser des nanoparticules contenant des complexes de lanthanide. La polymérisation en masse n'est donc pas adaptée dans notre cas. Néanmoins cette petite introduction a permis de dresser un aperçu des différentes méthodes de dopage d'un polymère par un organolanthanide. De plus le nombre important de travaux sur le sujet confirme l'intérêt de combiner les propriétés de ces deux matériaux. Il s'agit à présent de transposer ce système aux nanoparticules de polymère par polymérisation en phase hétérogène. Ce terme englobe tous les procédés de polymérisation qui

conduisent en fin de réaction à des polymères qui se présentent sous une forme dispersée au sein d'une phase continue. Quand cette phase continue est constituée d'eau, on appelle cette dispersion latex.

1.2 Polymérisation en milieu dispersé : les latex

L'origine du mot « latex » est grecque et signifie gouttelette (en latin, latex veut dire liquide). Les particules de latex sont présentes à l'état naturel chez un grand nombre d'espèces de plantes (plus de 2000) sous forme de sève laiteuse [9]. L'exemple le plus important est celle sécrétée par l'hévéa qui est constituée de polyisoprène cis-1,4, plus connu sous le nom de caoutchouc naturel. Aujourd'hui le mot latex est devenu un terme générique pour désigner tous les types de dispersions de polymère. Les dispersions de polymère sont définies comme des systèmes colloïdaux où le polymère est finement distribué sous forme de particules individuelles stables dans une phase liquide continue. Les premiers à utiliser les propriétés du caoutchouc naturel furent les Mayas en 1600 avant Jésus-Christ, et c'est Christophe Colomb qui le ramena en Europe au cours du 18^{ème} siècle [10]. C'est en essayant de copier le caoutchouc naturel vers la fin du 19^{ème} siècle et début du 20^{ème}, que de grandes avancées ont été réalisées dans le domaine de la polymérisation en phase hétérogène. C'est finalement en 1912 que Kurt Gottlob inventa un procédé pour la préparation de caoutchouc synthétique par polymérisation de l'isoprène en milieu aqueux : les premières particules de latex synthétiques étaient nées. Depuis, une grande quantité de travaux ont été effectués dans ce domaine et de nombreuses voies de synthèse ont été développées [10].

Les latex synthétiques présentent en effet des qualités uniques :

- Ils sont peu visqueux (moins qu'une solution de polymère à la même concentration) et donc faciles à manipuler.
- Il est possible de former des films de polymère par simple évaporation de l'eau
- Les propriétés des latex peuvent être ajustées en contrôlant la nature des polymères et le procédé de synthèse.
- La synthèse des latex ne nécessitant pas de solvant organique, ils satisfont pleinement les nouvelles normes environnementales destinées à réduire au minimum les émissions de COV.

Aujourd'hui les dispersions de polymère sont très largement étudiées et utilisées, que ce soit dans l'industrie ou dans le milieu académique. En effet les latex, du fait de leurs propriétés remarquables et de leurs multiples applications, sont très présents dans la vie de tous les jours : industrie du papier, des peintures, du bâtiment, des adhésifs mais aussi dans le domaine biomédical et pharmaceutique [11]. Si les domaines d'application des latex sont divers et variés, il en est de même quant aux méthodes pour les obtenir. La polymérisation en phase hétérogène peut être divisée en plusieurs sous catégories spécifiques : précipitation, suspension, dispersion, microsuspension, émulsion, miniémulsion et microémulsion [12]. La taille des particules s'échelonne par ordre décroissant du millimètre à la dizaine de nanomètre [10]. Dans le cadre de cette thèse, l'objectif est de synthétiser des particules de tailles nanométriques. Parmi les différentes techniques précitées, seules les polymérisations en émulsion/microémulsion/miniémulsion sont adaptées. C'est pourquoi le cas des latex micrométriques marqués par des organolanthanides ne sera pas développé par la suite. Le

lecteur intéressé pourra se référer aux nombreux travaux de l'équipe de M.A. Winnik sur le sujet [13-18]. Ainsi, seulement deux procédés de polymérisation en phase hétérogène seront détaillés : la polymérisation en émulsion et la polymérisation en miniémulsion. La polymérisation en émulsion est de loin le procédé le plus utilisé industriellement pour la préparation de dispersions de polymère [10] tandis que la polymérisation en miniémulsion est la méthode que nous avons choisie d'utiliser au cours de cette thèse. La microémulsion, du fait de la grande quantité de tensioactif nécessaire n'a pas été retenue, même si cette méthode est également envisageable pour l'incorporation de molécules organiques dans des particules polymères [19]. En outre, cette technique a été utilisée au chapitre 2 pour la synthèse de nanoparticules de silice. Après avoir choisi la méthode de synthèse des particules de latex, il convient de définir ensuite la stratégie d'encapsulation. En effet, celle-ci doit être adaptée au composé que l'on souhaite encapsuler et dépend également de l'application visée. La thèse de Renard B. dresse un bon aperçu des différentes méthodes envisageables [20]. Pour l'incorporation de molécules organiques dans des particules de latex, on distingue les deux cas de figure suivants :

- Le latex est synthétisé séparément dans une première étape et la molécule d'intérêt est introduite par la méthode dite de gonflement [21, 22]. Dans cette méthode, un solvant organique (acétone [21] ou THF [22] par exemple) contenant la molécule d'intérêt est mélangé à la suspension de polymère pendant plusieurs heures. Quand les molécules ont diffusé à l'intérieur des particules, le solvant organique est évaporé piégeant ainsi le composé à encapsuler.
- La molécule à incorporer est présente dans la formulation avant la polymérisation. On peut alors distinguer le cas où la molécule est polymérisable, ce qui conduit à un greffage covalent entre la bille de polymère et la molécule d'intérêt [23], du cas où la molécule ne possède aucune fonction polymérisable. L'incorporation se fait alors uniquement par polymérisation d'un mélange de monomères dans lequel la molécule à encapsuler a été préalablement solubilisée [24].

Comme il est impossible de dresser une liste exhaustive de toutes les méthodes permettant d'introduire des molécules organiques dans des polymères, nous nous intéresserons en particulier aux systèmes mettant en jeu des procédés de polymérisation soit en émulsion soit en miniémulsion.

L'émulsion et la miniémulsion sont deux procédés de polymérisation formant des dispersions colloïdales stables qui sont appelées latex quand elles sont dispersées dans l'eau. Les paragraphes qui suivent détaillent les mécanismes de la polymérisation en émulsion et en miniémulsion. Pour chacun des cas, quelques exemples d'incorporation de composés luminescents sont également présentés.

2 Polymérisation en émulsion

Ce procédé permet de produire des particules de polymère submicroniques, finement dispersées dans l'eau par un mécanisme radicalaire. Il permet d'obtenir des latex avec un taux de solide élevé et un produit final possédant une faible viscosité. Le mécanisme de polymérisation en émulsion est composé de trois étapes qui ont été décrites pour la première fois par Harkins en 1947 [25-27] et modélisées par Smith et Ewart [28]. Une formulation typique est composée de monomères très peu solubles dans l'eau, de tensioactifs, d'eau (milieu dispersant) et d'un amorceur radicalaire, généralement soluble dans l'eau. Le tensioactif est une molécule amphiphile qui présente la capacité de diminuer la tension de surface des composés hydrophobes dans la phase aqueuse et ainsi de les stabiliser. Avant le début de la polymérisation le monomère est présent sous trois formes. Une partie du monomère forme des gouttes de diamètre compris entre 1 et 10 μm , stabilisées par les molécules de tensioactif, une partie est contenue dans les micelles (10-20 nm de diamètre) et une faible quantité enfin est dissoute dans le milieu continu (eau).

Le mécanisme de la polymérisation en émulsion se divise en trois étapes [29] :

- Etape 1 : La nucléation

Les particules se forment durant cette étape, c'est ce qu'on appelle la nucléation. Au début de la polymérisation l'amorceur, dissout dans la phase aqueuse, se décompose en radicaux libres qui réagissent avec le monomère dissout dans la phase aqueuse pour former des « oligomères ». La réaction est donc initiée dans le milieu continu. La formation des particules est ensuite le résultat de trois mécanismes de nucléation qui sont en compétition:

La **Nucléation Hétérogène** (ou *nucléation micellaire*) caractérise l'entrée de radicaux libres ou d'oligomères dans les micelles contenant du monomère. Ce mécanisme nécessite une concentration en tensioactif plus importante que la concentration micellaire critique (CMC), indispensable à la présence de micelles. Toutes les micelles ne forment pas des particules, le nombre de particules formé par nucléation hétérogène est inférieur au nombre initial de micelles.

La **Nucléation Homogène**, de même que la nucléation hétérogène, débute dans la phase aqueuse. Cependant dans ce cas les oligomères formés croissent et deviennent hydrophobes, et donc insolubles dans le milieu continu, avant de rencontrer une micelle. Ces oligomères précipitent donc, formant de nouvelles particules de polymère stabilisées par le tensioactif présent dans le milieu ou par les charges apportées par l'amorceur. Ce mécanisme est donc prépondérant quand il n'y a pas de micelles en solution ou quand le monomère est relativement soluble dans l'eau.

La **Nucléation homogène-coagulative** est une extension de la nucléation homogène. Les oligomères sont des particules de polymère instables qui peuvent donc coalescer pour former des particules plus grosses. Ainsi le nombre de particule diminue et la surface de chacune d'entre elle augmente. La quantité de tensioactif adsorbé sur chaque particule est donc plus importante et la stabilisation plus efficace.

Ces trois mécanismes de nucléation peuvent intervenir en même temps. Ils sont en compétition et dépendent de plusieurs paramètres tels que la solubilité du monomère dans l'eau ou la concentration en tensioactif. Durant cette étape, due à l'augmentation du nombre de particules, une augmentation de la vitesse de polymérisation est observée. C'est l'étape la plus rapide (environ 15% de conversion), mais elle influence grandement la taille et la distribution finale de taille des particules de latex [30, 31]. Le nombre de particules est fixé à la fin de cette étape.

En principe, en plus des nucléations homogène et hétérogène, les particules de polymère peuvent potentiellement être formées également par l'entrée des radicaux dans les gouttelettes de monomère. Néanmoins la surface développée par les micelles (10-20 nm) est bien plus importante comparée à celle des gouttelettes (1-10 μm). Donc la probabilité pour un radical de rencontrer une gouttelette est si faible qu'elle est négligeable.

- Etape 2

Elle intervient une fois que les particules ont été formées (nucléées). Elle rend compte de la croissance des particules formées pendant l'étape 1. La vitesse de polymérisation est constante pendant cette étape car le nombre de particules et la concentration en monomère dans les particules ne varient pas. Cette étape est donc aussi appelée étape stationnaire. Les particules sont constamment alimentées en monomère par diffusion du monomère contenu dans les gouttelettes réservoirs à travers la phase aqueuse.

- Etape 3

A la fin de l'étape stationnaire, les gouttelettes de monomère « réservoirs » ont disparu et une conversion comprise entre 50 et 70% est atteinte. L'absence de gouttelette de monomère marque le début de l'étape 3. Le monomère, uniquement présent dans les particules continue de polymériser. Le nombre de particule reste constant alors que la vitesse de polymérisation ainsi que la concentration en monomère diminuent. La taille des particules de latex finale est généralement comprise entre 50 et 600 nm en fonction du nombre de particules formées initialement (lors de l'étape 1).

La technique de polymérisation en émulsion classique a été largement utilisée dans la littérature pour l'encapsulation de particules inorganiques [32-34] et de divers composés organiques [23, 35].

Ainsi des **pigments organiques** tels que les rhodamines ou les phtalocyanines [35] ont été encapsulés dans des particules de polystyrène [36]. Le pigment organique est dans un premier temps dispersé dans la phase aqueuse contenant un stabilisant de type polymère. Le monomère est ensuite introduit et émulsifié. La solution est chauffée à 90°C et l'amorceur est ajouté goutte à goutte sous la forme d'une solution aqueuse de persulfate de sodium. Le pigment encapsulé dans le polystyrène est récupéré sous forme de poudre.

Il est également possible d'encapsuler des **particules métalliques** par cette méthode [34]. Des nanoparticules d'argent ont ainsi été encapsulées par copolymérisation en émulsion d'un mélange de styrène et d'acide méthacrylique en présence d'acide oléique. L'acide oléique permet à la polymérisation d'avoir effectivement lieu à la surface des particules d'argent. En effet les groupes

acides carboxyliques ont une grande affinité pour les oxydes présents à la surface des nanoparticules métalliques et l'acide oléique y est fortement adsorbé. Il y a alors formation d'une double couche qui peut solubiliser une certaine quantité de monomère et dans laquelle la polymérisation peut donc avoir lieu. L'épaisseur de l'écorce est réglée par la quantité de monomère ajoutée.

Si le procédé de polymérisation en émulsion permet d'incorporer des particules de différentes natures, il convient également à l'incorporation de molécules d'intérêts comme des **molécules luminescentes**. Comme cela a déjà été mentionné, l'incorporation de telles molécules peut s'effectuer par gonflement de particules préformées ou *in situ* pendant la polymérisation. La première méthode a été utilisée par différentes équipes pour incorporer par exemple des porphyrines [22], ou des organolanthanides à base de β -dicétones [21] ou de dérivés d'acide picolinique [37]. Même si ces études ont montré la pertinence de ce type d'incorporation par voie physique, elle impose une procédure en plusieurs étapes. L'incorporation chimique en revanche (avec ou sans formation de liaisons covalentes) est généralement effectuée en une seule étape en polymérisant un mélange monomère/molécules à incorporer. Tronc F. et al. ont ainsi modifié des fluorophores organiques pour les rendre polymérisables [23]. Des groupements méthacrylate ont ainsi été greffés sur le fluorophore. L'incorporation a ensuite été effectuée par copolymérisation en émulsion du méthacrylate de méthyle et des molécules ainsi modifiées. Même si des particules luminescentes ont pu être obtenues par cette méthode, les auteurs ont remarqué que le taux d'incorporation était très faible. En revanche la même polymérisation en miniémulsion a conduit à une incorporation beaucoup plus efficace. Les nanoparticules luminescentes à base de polymères π conjugués sont également très utilisées [38-40]. Ces polymères possèdent une délocalisation d'électrons π importante le long de leurs chaînes ce qui permet d'adapter leurs spectres d'émission et d'absorption [40]. Les propriétés de luminescence proviennent alors directement de la nature du polymère constituant la particule. Il ne s'agit donc pas exactement d'un mécanisme d'incorporation, mais ce type de composé permet d'obtenir des nanoparticules polymériques luminescentes. Ce type de polymère n'ayant pas été utilisé dans cette étude, cet aspect ne sera pas développé davantage ici. Les lecteurs intéressés pourront se référer à une revue récente de S. Mecking sur le sujet [41].

Bien que certains exemples montrent que l'encapsulation par polymérisation en émulsion classique est réalisable, plusieurs auteurs [42-45] ont montré que les caractéristiques de la polymérisation en miniémulsion sont plus adaptées. En effet le composé peut être directement dispersé dans la gouttelette de monomère, et donc encapsulé dans les particules de polymère après polymérisation. Contrairement à la polymérisation en émulsion, les gouttelettes de monomère en miniémulsion peuvent être vues comme des nano-réacteurs indépendants. La partie suivante développe cette méthode.

3 Polymérisation en miniémulsion

3.1 Définition

La polymérisation en miniémulsion [46] peut être vue comme un cas particulier de la polymérisation en émulsion conventionnelle, décrite précédemment. En effet, c'est également un procédé hétérogène et le latex est produit à partir des mêmes composants. Avant la polymérisation, les miniémulsions sont des dispersions aqueuses relativement stables de gouttelettes de monomère ayant un diamètre compris entre 50 et 500 nm [42]. La principale différence avec la polymérisation en émulsion classique est l'addition d'une espèce très hydrophobe [42, 44, 47] (agent hydrophobe) avec le monomère et le système d'agitation. Le terme miniémulsion est généralement utilisé pour parler d'une émulsion dans laquelle la nucléation des particules intervient exclusivement à l'intérieur des gouttelettes de monomère [48].

Ainsi, la polymérisation en miniémulsion diffère de la polymérisation en émulsion conventionnelle par le mécanisme de nucléation et par le mode de transport du monomère. En effet contrairement au procédé de polymérisation en émulsion, la diffusion du monomère à travers la phase continue est minimisée. De plus tandis que dans un procédé de polymérisation en émulsion conventionnel, la taille des particules est essentiellement déterminée par la quantité de tensioactif et de monomère ajoutés, en polymérisation en miniémulsion, elle dépend étroitement de l'énergie apportée par le système d'agitation et du dispositif utilisé pour former les gouttelettes de monomère (ultrasons, homogénéisateur haute pression, mélangeurs statiques, etc.). L'étape d'agitation nécessaire à l'obtention d'une miniémulsion crée des gouttelettes de monomère stables. La diffusion du monomère à travers la phase aqueuse étant en principe supprimée, chaque gouttelette de monomère est transformée en particule de polymère sans qu'il y ait eu d'échange de matière entre elles [42, 44, 47]. Une miniémulsion parfaite respecte donc l'égalité :

Nombre de gouttelettes de monomère = Nombre de particules de polymère

Ceci est théoriquement possible à condition que les gouttelettes soient stables le temps de la polymérisation (absence de phénomènes de coalescence et de murissement d'Ostwald), et qu'elles soient le lieu privilégié de la polymérisation (peu ou pas de micelles de tensioactif et faible concentration en monomère dans la phase aqueuse) [48] .

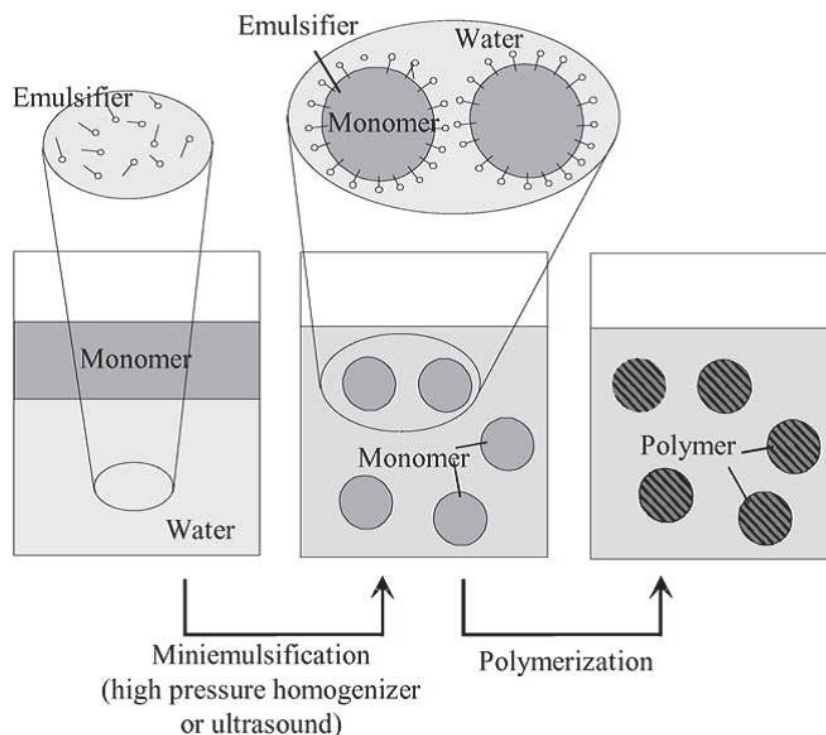


Figure 73 Schéma de principe d'une réaction de polymérisation en miniémulsion [45]

Les miniémulsions sont constituées d'une phase continue, d'un tensioactif, d'un co-stabilisant, d'un amorceur de polymérisation radicalaire et d'un ou plusieurs monomères. La première étape consiste à réduire la taille des gouttelettes de monomère par un procédé d'homogénéisation de grande intensité (Figure 73) [49]. En effet des tailles de gouttelettes submicroniques sont nécessaires pour rendre prédominante la nucléation des gouttelettes. Ugelstad et al. [50] ont été les premiers à montrer que si la taille des gouttelettes de monomère était suffisamment petite, elles pouvaient être nucléées efficacement. En effet, plus les gouttes de monomère sont petites et plus elles développent de surface, ce qui augmente leur probabilité de capter les radicaux générés dans la phase continue. Le fait que la nucléation se produise dans les gouttelettes permet de les assimiler à des « nano-réacteurs » individuels [51]. Ceci implique que toutes les gouttelettes de monomère soient effectivement nucléées, et qu'il n'y ait pas de redistribution du monomère entre les particules (*i.e.* que le monomère ne puisse pas diffuser à travers la phase aqueuse).

Les miniémulsions doivent donc être formulées de manière à ce que les gouttelettes de monomère restent stables et que leur taille soit suffisamment faible pour garantir leur nucléation. Deux phénomènes sont responsables de la dégradation d'une miniémulsion : la coalescence et la diffusion du monomère, aussi appelé mûrissement d'Ostwald [52].

La coalescence est l'agrégation de deux gouttelettes entre elles par collision. Ce phénomène est évité (ou du moins réduit) par répulsion électrostatique ou stérique grâce à l'utilisation de tensioactifs. Le tensioactif entraîne une diminution de la tension interfaciale. Le type et la quantité de tensioactif utilisé influence la taille des gouttes formées. En 2000, Bechthold et al. [53] a montré qu'à la fois les tensioactifs ioniques et non-ioniques permettaient de former des miniémulsions stables. Les tensioactifs ioniques sont néanmoins plus efficaces pour la formation de petites gouttes alors que les tensioactifs non-ioniques permettent de stabiliser en général des gouttelettes de taille plus grosse.

Le mûrissement d'Ostwald entraîne la disparition des plus petites gouttes (qui servent alors de réservoir aux plus grosses), ce qui a pour conséquence une augmentation de la taille moyenne des gouttelettes. La diffusion de monomère à travers le milieu continu (responsable de ce phénomène) peut être retardée par l'ajout d'un agent hydrophobe. Cet agent hydrophobe (appelé également co-stabilisant, ou agent de pression osmotique) crée une pression osmotique à l'intérieur des gouttelettes qui évite que le monomère diffuse hors de la goutte. La pression osmotique créée dépend de la température (T), de la concentration en hydrophobe (C) et de sa masse molaire (M) :

$$\pi = RTC/M$$

D'après Landfester et al. [45, 54], pour qu'une miniémulsion atteigne son état d'équilibre il faut que la pression osmotique à l'intérieur des gouttelettes soit supérieure à la pression de Laplace (i.e. la différence de pression entre deux fluides séparés par une interface commune). Cet agent hydrophobe est généralement un alcane à longue chaîne, un alcool gras ou un composé polymérisable possédant une structure similaire [42, 44, 47]. Son utilisation est issue des travaux de Higuchi et Misra [55] qui avaient montré que la dégradation d'une émulsion par diffusion pouvait être retardée par ajout d'une petite quantité d'une espèce hydrophobe dans la phase organique. L'hydrophobe, piégé à l'intérieur des gouttes de monomère, ne doit pas diffuser à travers la phase aqueuse. Donc moins l'hydrophobe est soluble dans l'eau et plus il est efficace (il doit évidemment aussi être soluble dans le monomère).

De nombreux composés peuvent jouer le rôle d'agents hydrophobes comme par exemple l'hexadécane, le dodecanethiol ou même des polymères de masse moléculaire élevée. Chern et al. [56] ont démontré notamment qu'un pigment bleu hydrophobe pouvait être utilisé comme co-stabilisant. Ils ont de plus montré que la nucléation s'effectuait bien dans les gouttelettes de monomère et de façon homogène.

L'amorceur peut être soit soluble dans l'eau soit dans la phase organique, mais cela a une influence sur le mécanisme de nucléation. En effet les amorceurs solubles dans la phase organique semblent favoriser la nucléation dans les gouttelettes [57]. Ils sont en général privilégiés quand le monomère est assez soluble dans l'eau (comme le MMA par exemple) pour éviter la formation de particules en phase aqueuse par nucléation homogène (on parle ainsi de nucléation secondaire). De plus il a été montré que la concentration en amorceur influe sur la vitesse de polymérisation et sur la masse molaire (ainsi que sa distribution) du fait de la recombinaison des radicaux à l'intérieur des gouttes. Pour les amorceurs solubles dans l'eau, en revanche, plusieurs mécanismes de nucléation sont en compétition. En effet si la polymérisation est amorcée dans la phase aqueuse, les oligomères formés deviennent de plus en plus hydrophobes (comme dans un procédé de polymérisation en émulsion conventionnel). Ils peuvent alors entrer dans une micelle, dans une goutte de monomère ou encore former une particule par précipitation s'ils deviennent trop hydrophobes (et donc insolubles). Pour favoriser la nucléation dans les gouttelettes, et donc éviter les nucléations homogène et hétérogène, il faut prendre en compte certains paramètres. Il faut tout d'abord choisir la concentration en tensioactif de telle sorte à ne pas avoir de micelles dans le milieu. De plus les tailles des gouttelettes doivent être suffisamment petites pour favoriser la capture des oligomères. En effet si la surface développée par les gouttelettes de monomère est grande, alors la capture des radicaux sera efficace et la nucléation dans les gouttes favorisée.

Le procédé de polymérisation en miniémulsion présente donc beaucoup d'avantages pour l'encapsulation d'espèces de manière homogène. En effet le fait d'empêcher l'échange de monomère entre particules pendant la polymérisation permet de s'assurer de l'homogénéité en composition de chaque particule. Les gouttelettes de monomère peuvent être assimilées à des nano-réacteurs isolés dont la composition et la taille sont supposées rester constantes pendant la polymérisation. Ainsi, contrairement à la polymérisation en émulsion conventionnelle dont les mécanismes de polymérisation sont directement liés à l'échange de monomère entre les particules/micelles/gouttelettes à travers la phase continue, la polymérisation en miniémulsion devrait permettre la synthèse de particules dopées de manière plus homogène. Cette voie a été utilisée pour l'élaboration de nouveaux colloïdes nanostructurés. La prochaine partie détaille quelques exemples de nanoparticules hybrides synthétisées par ce procédé.

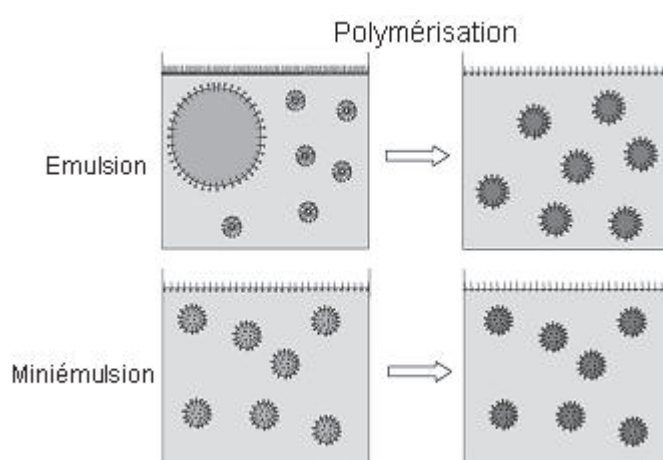


Figure 74 Différence entre une émulsion conventionnelle et une miniémulsion [45]

3.2 Encapsulation de composés organiques et inorganiques par polymérisation en miniémulsion

La polymérisation en miniémulsion est donc particulièrement adaptée pour l'encapsulation d'espèces diverses. En effet la nucléation intervient uniquement à l'intérieur des gouttelettes de monomère qui peuvent être assimilées à des nano-réacteurs indépendants. Ainsi si l'espèce est dissoute ou dispersée à l'intérieur des gouttelettes, elle a de grande chance d'y être incorporée pendant la polymérisation. L'identité des gouttelettes est préservée tout au long de la polymérisation, ce qui assure théoriquement une homogénéité de composition au sein de la particule finale [48]. Les différentes stratégies d'encapsulation basées sur la polymérisation en miniémulsion sont détaillées ci-dessous. Dans un premier temps des exemples d'encapsulation de différents matériaux sont présentés, avant de s'intéresser plus particulièrement à l'incorporation de molécules organiques lumineuses.

3.2.1 Encapsulation de solides inorganiques

Le polymérisation en miniémulsion a été utilisée pour l'encapsulation de particules minérales. Les particules inorganiques doivent être chimiquement compatibles avec le ou les monomères ainsi qu'avec le polymère formé pour garantir une bonne encapsulation. Le contrôle de la chimie aux interfaces est donc essentiel afin d'augmenter l'affinité entre les deux phases, le but étant de diminuer les énergies aux interfaces. La quantité et le type de tensioactif utilisés doivent donc être également ajustés de manière à ce que la taille et la chimie des gouttelettes de monomère soient compatibles avec celles des composés inorganiques à encapsuler. La préparation de la miniémulsion se déroule en deux étapes (Figure 75). Dans un premier temps, les particules hydrophiles doivent être rendues hydrophobes pour pouvoir être dispersées dans le monomère. Puis cette suspension est ajoutée à une solution aqueuse contenant le tensioactif qui stabilisera l'interface monomère/eau. Le mélange est finalement soniqué pour former la miniémulsion.

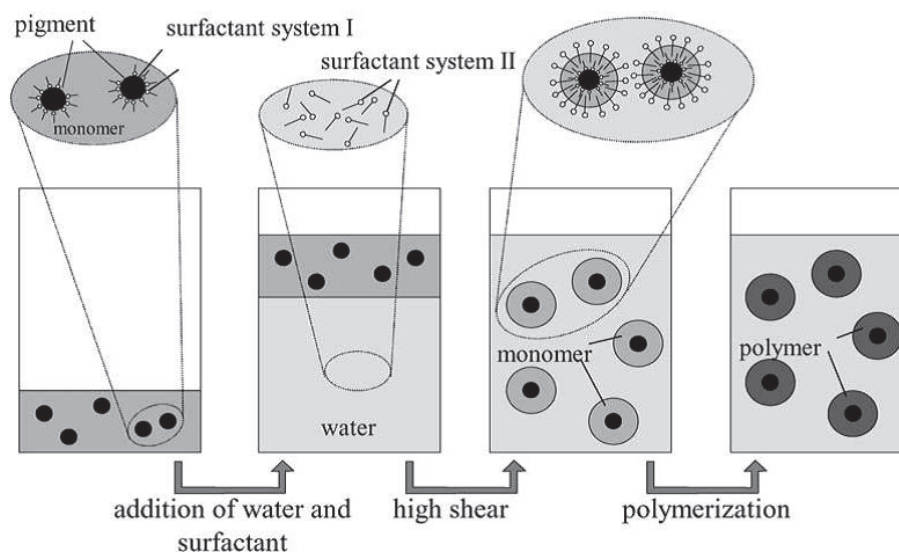


Figure 75 Principe général de l'encapsulation de particules inorganiques par polymérisation en miniémulsion [45]

Erdem et al. [58-60] ont décrit l'encapsulation de particules de dioxyde de titane (TiO_2) rendues préalablement hydrophobes, par polymérisation en miniémulsion du styrène. Cette étude a montré

que la présence de particules de TiO_2 dans les gouttelettes affectait la taille de ces dernières et que l'encapsulation n'était pas complète. Dans la meilleure configuration, 80 % des particules de TiO_2 sont encapsulées et 27 % des particules de polystyrène sont vides. Plusieurs explications ont été données pour interpréter cette limitation : un phénomène de nucléation homogène, une agrégation partielle du TiO_2 , et/ou une nucléation des gouttelettes de styrène incomplète [60].

Un autre exemple est l'encapsulation de nanoparticules de carbonate de calcium (CaCO_3), toujours par polymérisation en miniémulsion [53]. Les particules de nature hydrophile ont été tout d'abord recouvertes par une couche d'acide stéarique avant d'être dispersées dans le monomère. Les groupements COOH se lient efficacement aux particules de CaCO_3 et l'acide stéarique diffuse très peu vers la seconde interface eau/polymère. Les particules de CaCO_3 ont ainsi pu être encapsulées dans des nanoparticules de polystyrène, au centre de la bille (Figure 76).

Des particules d'oxyde de fer (Fe_3O_4) ont également été encapsulées avec succès dans des particules de polystyrène [45]. L'acide oléique a été utilisé dans ce cas pour stabiliser l'interface Fe_3O_4 /styrène alors que le SDS a été utilisé pour stabiliser l'interface eau/styrène. Les particules de Fe_3O_4 étant très petites (environ 10 nm), chaque particule de latex contient un grand nombre de particules d'oxyde de fer concentrées au coeur (Figure 76).

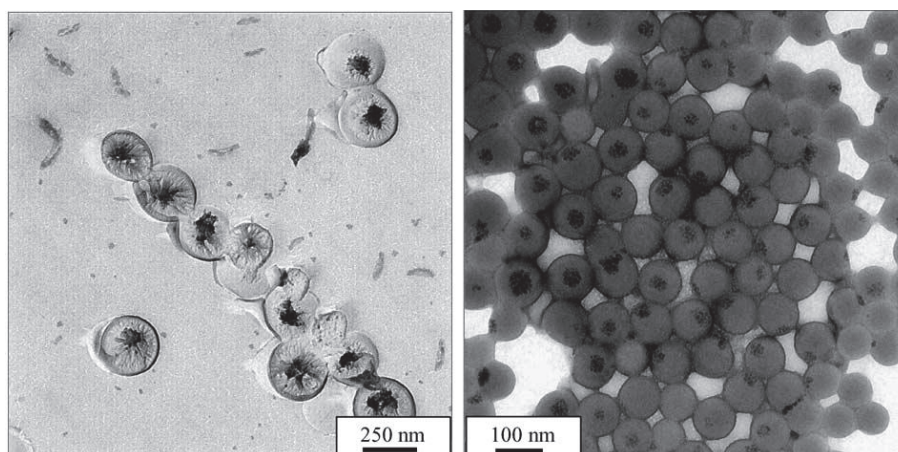


Figure 76 Encapsulation de CaCO_3 (à gauche) et de Fe_3O_4 (à droite) dans des particules de polystyrène par polymérisation en miniémulsion [45]

Le noir de carbone a été encapsulé par une méthode dérivée de la précédente. Le noir de carbone est une poudre finement divisée qui a tendance à former des agrégats, ce qui nuit à ses propriétés de renforcement (il est utilisé comme charge dans les caoutchoucs par exemple). Le fait de les encapsuler permet d'éviter cette agglomération et assure donc une bonne dispersion au sein de la matrice.

Dans ce cas-ci le noir de carbone peut être dispersé dans le monomère puis ce mélange émulsifié dans l'eau (l'agent hydrophobe jouant alors également le rôle de stabilisant pour le noir de carbone, empêchant l'agrégation). Une autre méthode consiste à disperser le noir de carbone dans l'eau au moyen d'un tensioactif. L'émulsion contenant le monomère est quant à elle préparée séparément. Ces deux solutions sont ensuite mélangées et soumises aux ultrasons. Le processus de fission/fusion engendré permet de détruire les agrégats de noir de carbone et les gouttelettes de monomère, ne laissant que les systèmes hybrides (monomère + noir de carbone) plus stables [61].

3.2.2 Elaboration de nanocapsules à coeur huileux et à écorce polymère

La polymérisation en miniémulsion peut également être conduite en présence d'une huile, inerte pendant la polymérisation. Après la polymérisation, un phénomène de démixtion entre l'huile et le polymère peut se produire et différentes morphologies sont alors observées comme illustré sur la Figure 77 :

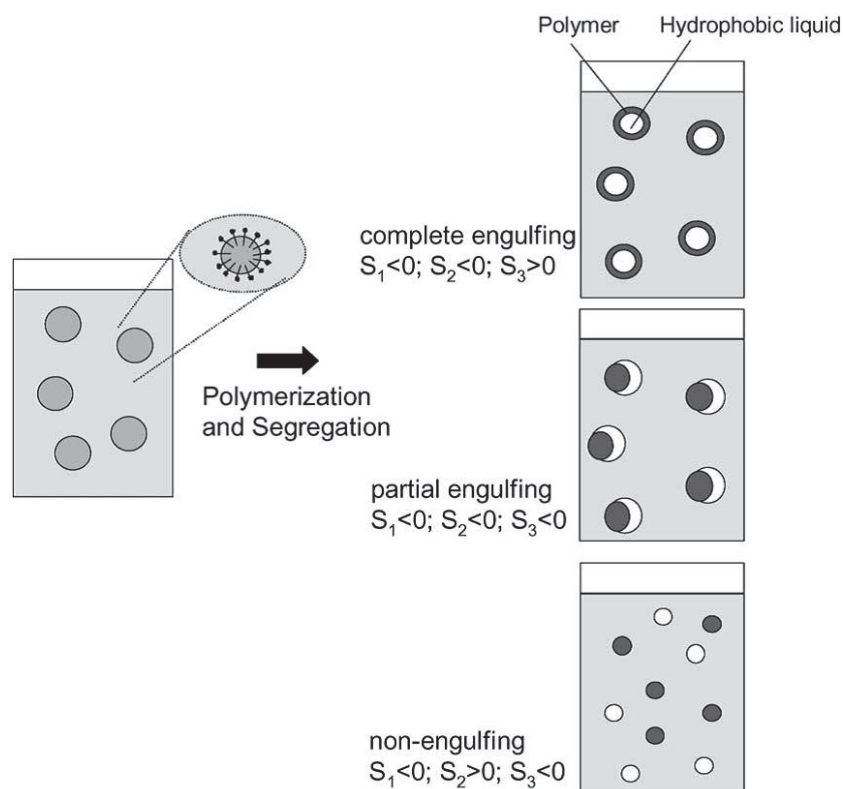


Figure 77 Représentation des différentes configurations possibles d'un système tri-phasique pendant la démixtion en fonction des coefficients de diffusion S_i . En fonction des tensions interfaciales entre les différentes phases, trois types de morphologie peuvent être obtenues.

La morphologie de la structure démixée dépend du type de tensioactif utilisé, de la polarité du monomère, et du choix de l'hydrophobe. Les premiers travaux prédisant l'évolution d'un système tri-phasique sous agitation ont été effectués par Torza et Mason [62]. Ces derniers ont montré que la configuration à l'équilibre de deux gouttelettes non miscibles (phases 1 et 3) dispersées dans un troisième liquide non miscible (phase 2) pouvait être prédite à partir des tensions interfaciales σ_{ij} et les coefficients de diffusion $S_i = \sigma_{jk} - (\sigma_{ij} + \sigma_{ik})$. Par convention on a $\sigma_{12} > \sigma_{23}$ ($S_1 < 0$). La phase 1 est complètement engloutie dans la phase 3 quand $S_2 < 0$ et $S_3 > 0$. Il n'y a pas d'engloutissement quand $S_2 > 0$ et $S_3 < 0$ et enfin si $S_1, S_2, S_3 < 0$ un engloutissement partiel est observé. Une analyse thermodynamique de ce système a également été menée par Sundberg et al. [63], ainsi qu'une étude sur l'influence du tensioactif et des polymères incompatibles. Chen et al. [64] ont quant à eux développé un modèle thermodynamique pour décrire les différences d'énergies libres entre les différentes configurations de particules possibles. Expérimentalement il ressort que pour la préparation de particules de polymères bi-phasiques dans l'eau, plusieurs paramètres sont à considérer :

- La différence d'hydrophilicité des monomères et des polymères
- La solubilité des monomères et des polymères dans l'eau
- La compatibilité du polymère formé

- Le type et la quantité d'amorceur utilisé
- La température

L'encapsulation de l'hexadécane par du PMMA est un bon exemple. En effet la différence importante d'hydrophilicité entre les deux phases conduit à formation de nanocapsules [65]. Le PMMA, bien qu'il ne soit pas soluble dans l'eau, est plus polaire que l'hexadécane qui lui est très hydrophobe. Les gouttelettes sont formées en sonicant une solution de MMA, d'hexadécane et d'AIBN (amorceur soluble dans le monomère) dans une solution aqueuse de SDS. La polymérisation conduit à la formation de nanocapsules de 160 nm de diamètre. Avant polymérisation l'hexadécane et le MMA sont solubles, mais une séparation de phase intervient pendant la polymérisation du fait de la non miscibilité entre le PMMA et l'hexadécane. L'utilisation d'un amorceur soluble dans le monomère permet d'éviter de former des particules de PMMA pures dans la phase aqueuse (le MMA étant un peu soluble dans l'eau). Pour augmenter la stabilité de l'écorce de la nanocapsule il est possible d'ajouter un agent réticulant, ce dernier n'affecte pas la taille des particules finales.

3.2.3 Encapsulation de molécules organiques luminescentes

Dans cette partie nous parlerons uniquement des méthodes d'incorporation chimique de molécules organiques (liées ou non de manière covalente à la matrice polymère). En effet la polymérisation en miniémulsion ne représente pas beaucoup plus d'intérêt que la polymérisation en émulsion quand l'incorporation est effectuée par gonflement de particules de polymère pré-formées (incorporation physique). Dans tous les exemples cités ci-dessous, la molécule organique est donc dissoute dans le monomère et le mélange est polymérisé. Il reste donc à différencier le cas où la molécule organique est copolymérisée avec le monomère de celui où elle est simplement piégée par les chaînes polymère pendant la polymérisation.

Dans le premier cas, soit la molécule luminescente possède un groupe polymérisable, soit le monomère utilisé est fluorescent [23, 66]. Ce dernier système est donc plus complexe et moins universel. Il est en effet restreint aux composés luminescents polymérisables, et peut donc nécessiter une modification chimique préalable de la molécule d'intérêt. C'est pourquoi nous ne nous attarderons pas sur cette technique, que nous avons écartée compte tenu des objectifs de cette thèse. L'exemple des polymères conjugués luminescents, brièvement introduit lors du paragraphe traitant de la polymérisation en émulsion, peut être néanmoins mentionné ici. Ces matériaux ont effectivement été utilisés pour synthétiser des nanoparticules luminescentes par polymérisation en miniémulsion [41, 67]. L'émission de ce type de particules peut être ajustée en incorporant des fluorophores organiques dans la matrice polymère [68] [69] (transfert d'énergie entre le fluorophore et la matrice polymère).

La deuxième méthode consiste simplement à dissoudre le complexe dans la phase monomère, à générer des gouttelettes en miniémulsion et à les polymériser. Le seul pré-requis ici est donc la solubilité du complexe dans la phase monomère.

L'équipe de K. Landfester a ainsi synthétisé des particules de latex fluorescentes de différentes natures fonctionnalisées [24] ou non [70] en utilisant le N-(2,6-diisopropylphenyl)-perylene-3,4-dicarboximide (PMI) comme composé luminescent (Figure 78). Ce dernier étant hydrophobe, son incorporation dans des particules de latex ne nécessite pas l'établissement de liens covalents avec le polymère. Les particules ainsi obtenues ont été utilisées avec succès pour marquer différentes

cellules [71, 72]. Il est intéressant de noter que malgré les différentes formulations testées (différents monomère et différents tensioactifs), l'incorporation du PMI n'a semble-t-il jamais posé problème : le latex synthétisé est luminescent dans tous les cas et la polymérisation ne semble pas être affectée par la présence du complexe.

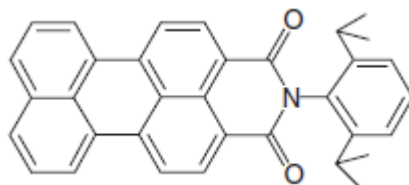


Figure 78 Structure chimique du N-(2,6-diisopropylphenyl)-perylene-3,4-dicarboximide (PMI)

Des organolanthanides hydrophobes ont également été incorporés en utilisant la même technique. K. Ando [73] a ainsi encapsulé un complexe d'euprium à base de trois sous-unités de 4,4,4-trifluoro-1-(2-naphtyl)-1,3-butanedione (Figure 79) dans des nanoparticules de polystyrène/poly(méthacrylate de glycidyle) par polymérisation en miniémulsion. Les auteurs ont constaté que dans le cas des particules de polystyrène, l'incorporation du complexe était très faible, du fait de la mauvaise solubilité de l'organolanthanide dans le styrène. C'est pourquoi du méthacrylate de glycidyle a été ajouté afin d'augmenter la solubilité du complexe, ce qui a conduit à des particules plus riches en composé luminescent.

C. Vancaeyzeele et al. [74] ont utilisé le même ligand que K. Ando avec différentes terres rares (Figure 79). Les différents organolanthanides ont été incorporés dans des particules de polystyrène synthétisées par polymérisation en miniémulsion en présence d'un agent réticulant. Des particules monodisperses de 70 nm de diamètre contenant chacune plus de 1000 lanthanides ont été ainsi obtenues.

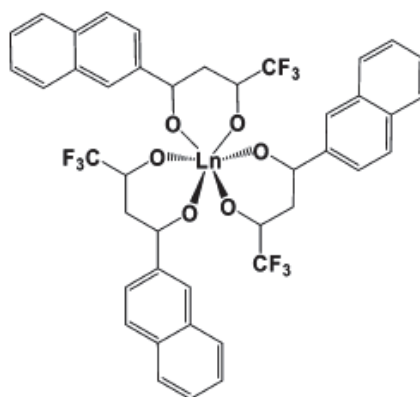


Figure 79 Structure du complexe auto-assemblé basé sur trois sous-unités de 4,4,4-trifluoro-1-(2-naphtyl)-1,3-butanedione

Un protocole similaire a été récemment utilisé par A.M. Ritcey et al. pour incorporer un complexe d'euprium (Figure 80) dans des particules de polystyrène [75]. Les auteurs ont observé qu'au-delà d'un certain taux de dopage, la miniémulsion devenait instable. Un problème récurrent lors de l'incorporation de molécules sans liaison covalente, et qui a déjà été abordé au chapitre 2 dans le cas de la silice, est le phénomène de relargage. En effet la molécule n'étant pas liée à la matrice

polymère, elle peut diffuser à l'extérieur de la particule. Ce phénomène a été étudié par Ritcey et al. [75]. Les auteurs ont montré que l'ajout d'un agent réticulant permettait d'en limiter l'effet.

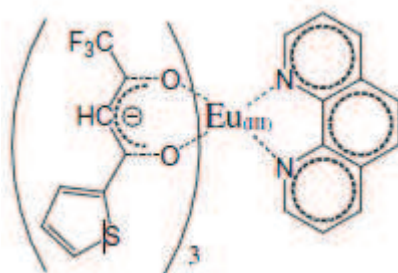


Figure 80 Structure chimique du complexe utilisé par A.M. Ritcey basé sur des ligands phénanthroline et 4,4,4-Trifluoro-1-(2-thienyl)-1,3-butanedione. Ce complexe auto-assemblé d'euporium a été incorporé dans des particules de polystyrène par polymérisation en miniémulsion [75].

L.P. Ramirez, M. Antonietti et K. Landfester [76] ont imaginé utiliser le fait que les lanthanides possèdent un nombre de coordination élevé pour insérer une ou plusieurs espèces polymérisables dans leur sphère de coordination. Ils ont ainsi incorporé un complexe de gadolinium par polymérisation d'une solution d'acrylate de butyle en miniémulsion. Les interactions du monomère avec la terre rare permettent, par un processus d'auto-organisation, d'obtenir des particules nanocomposites présentant une structure lamellaire (Figure 81).

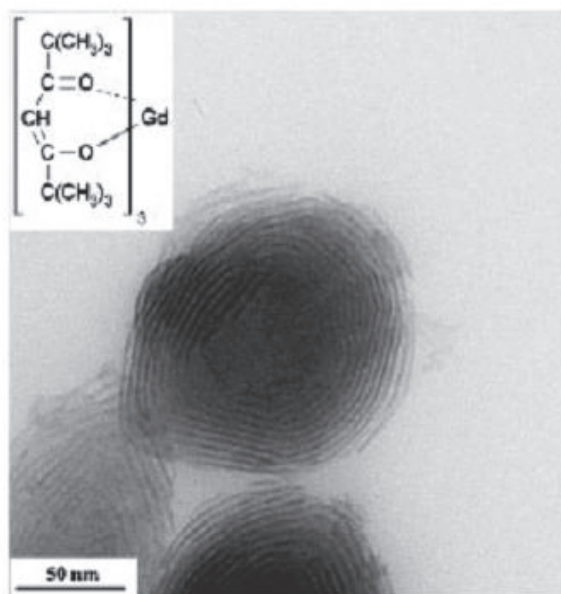


Figure 81 Structure lamellaire en oignon d'une particule nanocomposite complexe à base de Gd/polyacrylate de butyle synthétisée par polymérisation en miniémulsion [76].

Dans ce cas, même si l'organisation finale de la particule est particulière, il n'en demeure pas moins que l'incorporation a été effectuée sans liaison covalente, par simple dissolution du complexe dans le monomère.

Les précédents exemples traitent de polymérisation en miniémulsion directe (*i.e.* huile dans eau). Le complexe doit donc être hydrophobe pour pouvoir être encapsulé. Il est également possible de travailler en milieu indirect, dans le cas où la molécule est hydrophile. N. Jagielski et al. [77] ont par

exemple encapsulé des agents de contraste hydrophiles à base de gadolinium (Figure 82) par polymérisation en miniémulsion inverse. Les nanocapsules résultantes sont ainsi composées d'un corps aqueux contenant le complexe de gadolinium et d'une écorce poreuse de polyuréthane/polyurée réticulée par du dextran, permettant un échange avec les molécules d'eau environnantes. Ce dernier point est crucial pour le développement d'agents de contraste pour l'Imagerie par Résonance Magnétique (IRM) comme cela sera détaillé dans le chapitre 4.

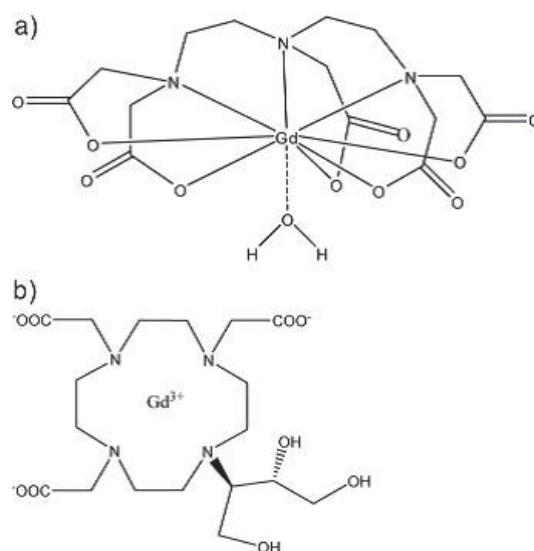


Figure 82 Structure de deux agents de contraste commerciaux a) Magnevist et b) Gadovist encapsulés dans des particules de polyuréthane/polyurée réticulées par polymérisation en miniémulsion inverse [77]

D'autres méthodes basées sur une double miniémulsification peuvent également être appliquées pour incorporer des molécules hydrophiles [78]. Cependant les organolanthanides choisis dans le cadre de cette thèse étant tous hydrophobes, nous ne nous attarderons pas davantage sur ce type d'incorporation.

3.3 Conclusion

La polymérisation en miniémulsion permet d'assimiler les gouttelettes de monomère à des nano-réacteurs indépendants. De nombreux composés organiques ou inorganiques ont ainsi été incorporés dans des particules de taille nanométrique par cette technique de polymérisation, notamment des organolanthanides. Dans la plupart des exemples décrits, l'incorporation se fait par simple polymérisation du monomère dans lequel le complexe est dissout. Contrairement à l'incorporation de molécules dans la silice par microémulsion inverse, le greffage covalent de l'organolanthanide au polymère est moins problématique. En effet l'organolanthanide n'étant pas soluble dans l'eau, il n'a à priori pas de raison de diffuser à l'extérieur des particules de polymère vers la phase aqueuse. Néanmoins certains auteurs ont déjà observé un tel phénomène [3, 75, 79], qui est très dépendant de la composition de la phase aqueuse [79], mais également de la méthode permettant d'estimer cette diffusion [75]. Même si ce relargage est généralement faible il peut arriver qu'il soit très important (plus de 50% de la quantité introduite) notamment dans certains milieux biologiques [79]. La réticulation des particules est l'une des solutions pouvant être envisagée pour empêcher la diffusion des molécules fluorescentes à l'extérieur des particules [75]. Néanmoins dans la majorité des cas, l'hydrophobie des composés luminescents incorporés est suffisante pour empêcher ou limiter le phénomène de relargage [74].

D'après les exemples décrits dans la littérature, il semble donc que la solubilité du complexe de lanthanide dans le monomère soit suffisante pour garantir son incorporation dans les particules de latex par polymérisation en miniémulsion. Différents complexes, monomères, ou tensioactifs ont ainsi été utilisés avec succès. Nous avons cependant remarqué que tous les complexes utilisés possédaient une structure « non-ionique » : l'ensemble terre rare + ligand étant neutre. Dans le cadre de cette thèse l'incorporation par miniémulsion d'un organolanthanide du Laboratoire de Reconnaissance Ionique et Chimie de Coordination présentant une « structure ionique » originale a été étudiée. Le ligand utilisé permet en effet d'exciter efficacement toute la série des terres rares luminescentes, et semble donc particulièrement prometteur pour le développement de nanoparticules multi-luminescentes. La création de codes optiques à partir de ces organolanthanides et leurs propriétés de luminescence seront développés au chapitre 4. Dans ce chapitre, les caractéristiques de l'incorporation et les propriétés finales des particules synthétisées par polymérisation en miniémulsion seront également détaillées.

4 Incorporation de complexes de lanthanides dans des particules de latex par polymérisation en miniémulsion

Le procédé retenu pour l'incorporation d'organolanthanides dans des nanoparticules de polymère est la polymérisation en miniémulsion. Comme cela a été expliqué précédemment, cette technique devrait permettre une incorporation homogène des organolanthanides dans des nanoparticules relativement monodisperses. En effet dans l'optique d'une application en imagerie biomédicale, la taille des particules doit être parfaitement contrôlée et suffisamment faible pour permettre une bonne diffusion à travers les tissus/membranes biologiques sans risque d'embolie [37, 80, 81]. De plus l'intérêt croissant pour le multiplexing nécessite le développement de marqueurs multi-luminescents [82-86]. Cette technique permet d'étudier différents paramètres d'intérêts biologiques simultanément, par injection d'une solution unique. Cette dernière contient alors différentes particules possédant des réactivités différentes (fonctionnalisation de la surface pour un ciblage spécifique d'une biomolécule), auxquelles sont associés des spectres de luminescence différents. Il est alors possible de détecter les différentes biomolécules ciblées à partir des émissions caractéristiques des traceurs [87-89]. Le fait de pouvoir disposer de particules possédant des spectres d'émission différents est également crucial pour le marquage de matériaux dans le cadre de la lutte anti-contrefaçon. Dans ce cas, la superposition des émissions de plusieurs molécules luminescentes incorporées dans la particule constitue un code d'authentification unique. La composition des gouttelettes de monomère (contenant le mélange d'organolanthanides) restant à priori inchangée pendant la polymérisation en miniémulsion, cette technique devrait permettre d'obtenir des latex dont l'homogénéité en dopage est garantie. C'est un point important pour s'assurer que le code d'identification, en particulier le rapport entre les différents pics d'émission, est identique pour toutes les particules et contrôlé.

Afin de pouvoir répondre à ces pré-requis, plusieurs organolanthanides ont été testés dans cette partie. L'objectif final est de maîtriser l'incorporation de ces molécules par un procédé simple, permettant l'utilisation d'un grand nombre d'organolanthanides dans des latex de natures différentes afin d'élargir le champ d'application. Ainsi l'incorporation a été effectuée par simple polymérisation de la solution de monomère contenant les organolanthanides. En effet cette méthode, qui ne nécessite aucune modification chimique préalable du ligand, paraît plus simple et universelle.

4.1 Présentation du protocole de synthèse

4.1.1 Formulation

Afin de diversifier la nature et les propriétés des latex luminescents, trois monomères différents ont été étudiés : le styrène (Sty), le méthacrylate de méthyle (MMA) et l'acrylate de butyle (Abu). Les différentes propriétés de ces matériaux pourront ainsi permettre une plus grande flexibilité d'utilisation. Le fait d'utiliser trois monomères différents va aussi permettre de mettre en évidence une éventuelle influence de la nature du monomère sur l'efficacité d'incorporation, et/ou sur les propriétés de luminescence des particules de latex.

Le dodécylsulfate de sodium (SDS) a été utilisé comme tensioactif. Ce tensioactif anionique, très répandu et bien décrit dans la littérature, a été utilisé à plusieurs reprises pour l'incorporation d'organolanthanides dans des particules polymère par polymérisation en miniémulsion [75].

L'acrylate d'octadécyle (ODA) a été utilisé comme agent hydrophobe pour ralentir le phénomène de mûrissement d'Ostwald. Contrairement à l'hexadécane qui est également largement utilisé, l'ODA est polymérisable ce qui permet de limiter les émissions de composés organiques volatils.

Les quantités engagées sont présentées dans le Tableau 21. Les formulations utilisées sont basées sur des études précédentes [24, 42, 75, 90]. La miniémulsion est formée en ajoutant la phase organique, constituée du monomère et de l'ODA, dans la phase aqueuse contenant le tensioactif. Le mélange est soumis à vive agitation magnétique pendant 30 minutes puis soniqué au moyen d'une buse à ultrasons (Figure 83). La puissance délivrée par la buse, la durée et l'homogénéité du traitement sont des paramètres prépondérants sur la taille finale des gouttelettes de monomère.

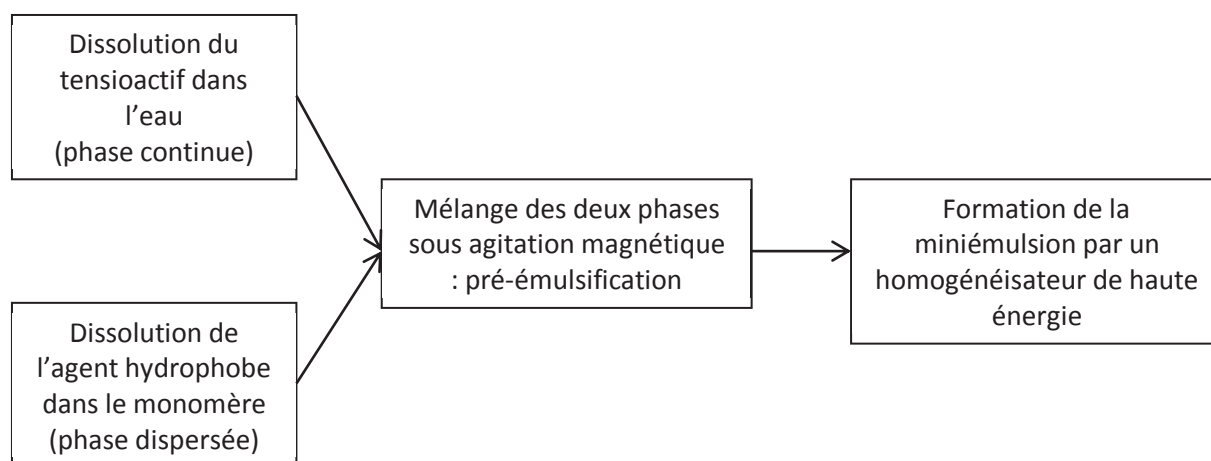


Figure 83 Schéma de principe de la formulation d'une miniémulsion directe

Tableau 21 Formulations utilisées pour la formation de miniémulsions stabilisées par le SDS pour 10 g de monomère dispersés dans 50 g d'eau.

Composés	Pourcentage massique par rapport au monomère (%)		
Monomères	Abu	Sty	MMA
SDS	1,5	1,5	0,75
ODA	4		
Amorceur	1		

4.1.2 Formation de miniémulsions

Il existe différents appareillages permettant la formation de gouttelettes de tailles submicroniques [29, 42]. Le plus répandu au laboratoire est la buse à ultrasons et c'est la méthode que nous avons choisi d'utiliser. Cette technique, décrite pour la première fois en 1927, permet de générer des petites gouttelettes par des mécanismes de fission/fusion répétés [91]. Sous l'effet des ultrasons, les gouttelettes de monomère changent rapidement de taille avant d'atteindre un état pseudo-stationnaire, correspondant à la taille minimale de gouttelette atteignable du système considéré (Figure 84). Tout comme la taille, la distribution de taille des gouttelettes diminue au cours du traitement par ultrasons. L'obtention de cet état pseudo-stationnaire est donc dépendante de la puissance délivrée par la buse à ultrasons et de la durée du traitement [44].

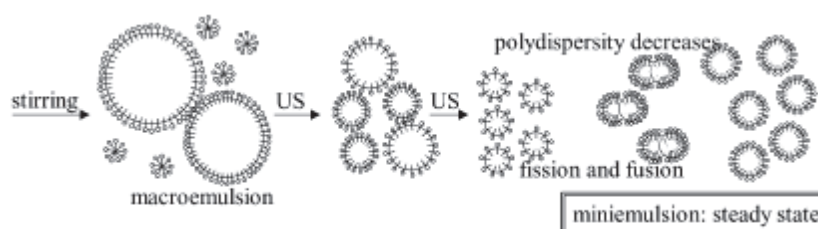


Figure 84 Principe de l'obtention d'une miniémulsion par sonication

La cavitation est considérée comme le paramètre crucial de cette technique [92]. La buse à ultrasons produit des ondes ultrasonores qui entraînent l'oscillation des molécules autour de leur état d'équilibre. L'implosion des bulles créées par la cavitation provoque des ondes de chocs dans le liquide environnant [42, 47]. Ce phénomène fortement énergétique peut entraîner la rupture des gouttelettes au voisinage des bulles qui implosent. La rupture des gouttelettes conduit à une augmentation de l'aire spécifique de l'interface entre les deux liquides, suivie ensuite de la stabilisation par le tensioactif des surfaces nouvellement formées. Les petites gouttelettes (colloïdalement moins stables que les grosses) présentent une probabilité de fusion supérieure aux grosses alors que ces dernières ont une probabilité plus importante d'être soumises à un phénomène de fission. Cela signifie que la miniémulsion atteint la taille de gouttelettes minimale autorisée pour une formulation donnée : les miniémulsions utilisent le tensioactif de façon optimale [44]. L'aire développée par l'interface est suffisamment grande pour que l'équilibre d'adsorption du tensioactif entraîne une très faible concentration de tensioactif dans la phase continue. Les miniémulsions correctement formulées se caractérisent donc aussi par l'absence de micelles.

Enfin un dernier point important concerne la zone à l'intérieur de laquelle sont effectivement produits les ultrasons. Comme le montre la Figure 85, cette zone localisée autour de la buse est très

réduite [42]. C'est pourquoi une agitation magnétique efficace de la solution est indispensable pour assurer une homogénéisation uniforme du mélange. De plus, pour limiter l'échauffement de la solution, l'homogénéisation est effectuée dans un bain de glace.

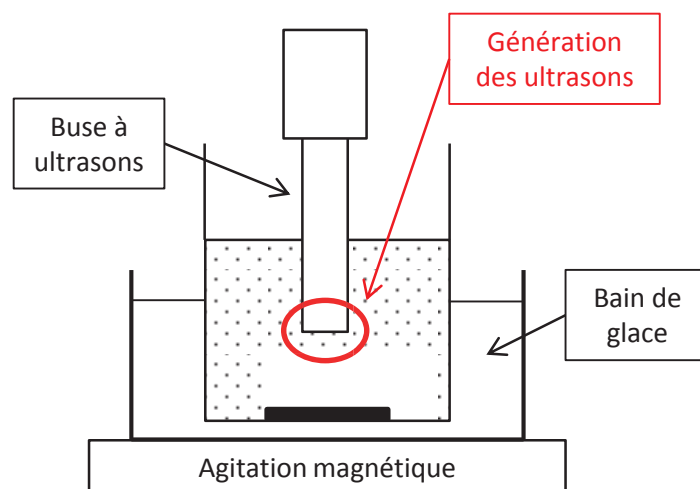


Figure 85 Schéma du montage expérimental utilisé pour former les miniémulsions

De nombreux protocoles différents ont été utilisés pour former une miniémulsion par action des ultrasons. La durée, la puissance et le mode (pulsé ou en continu) du traitement varient très souvent d'une étude à l'autre. En effet comme nous venons de le voir, cette étape est très dépendante des conditions expérimentales. Certaines études ont même montré que l'étape de pré-émulsification (avant la sonication) influençait également la taille finale des gouttelettes. Compte tenu de ces remarques, il est préférable d'optimiser le système au préalable de sorte d'atteindre l'état pseudo-stationnaire.

Dans cette thèse, les miniémulsions ont été obtenues à l'aide d'une buse à ultrason de 750 W à 80% d'amplitude en mode continu. La durée du traitement par ultrasons a été déterminée en suivant par diffusion dynamique de la lumière (DDL) l'évolution de la taille des gouttelettes de styrène (stabilisées par le SDS selon la formulation présentée dans le Tableau 21) au cours de l'homogénéisation. Les résultats sont présentés sur la Figure 86. Comme cela était attendu, la taille des gouttelettes de styrène diminue progressivement à mesure que le temps de traitement par ultrasons augmente, jusqu'à atteindre un palier où la taille évolue peu. Cependant, la précision des mesures effectuées par DDL ne permet pas de déterminer précisément la durée nécessaire pour atteindre cet état stationnaire. 10 minutes de sonication semblent néanmoins suffisantes pour obtenir des gouttelettes stables et de petites tailles. Par la suite, les miniémulsions seront donc formées en utilisant ces conditions de sonication : 80% de 750 W en continu pendant 10 minutes.

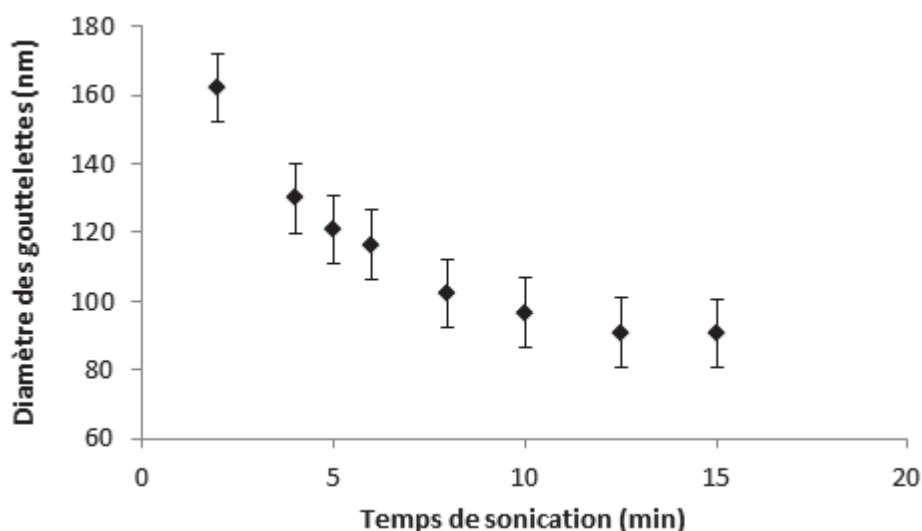


Figure 86 Influence du temps de traitement par ultrasons sur la taille des gouttelettes de styrène stabilisées par le SDS (1,5 % en masse par rapport au styrène)

4.1.3 Polymérisation de la miniémulsion

Lors d'une polymérisation radicalaire en miniémulsion, la nucléation des gouttelettes est en général largement prépondérante. La stabilité des gouttelettes est cependant un facteur crucial pour favoriser ce type de nucléation. Plus la stabilité des gouttelettes devant le mûrissement d'Ostwald est grande et plus la nucléation des gouttelettes sera efficace. La taille des gouttelettes a également une influence sur la vitesse de polymérisation. La probabilité de rencontre entre les oligoradicaux formés dans la phase aqueuse par l'intermédiaire de l'amorceur (hydrosoluble dans notre cas) et les gouttelettes de monomère est plus importante pour des gouttelettes de petites tailles. Ensuite, comme chaque gouttelette peut être vue comme un nano-réacteur indépendant, le monomère est essentiellement polymérisé à l'intérieur. Ainsi, dans le cas idéal où les phénomènes de mûrissement d'Ostwald, de coalescence ou de re-nucléation sont complètement supprimés, le nombre de particules de latex est identique au nombre de gouttelettes initial.

L'un des amorceurs le plus couramment utilisé est le persulfate de potassium (KPS). Cet amorceur hydrosoluble a donc été choisi pour cette étude. Des exemples dans la littérature ont montré que l'utilisation d'amorceurs hydrophobes est également adaptée pour la polymérisation de miniémulsions directes [93].

La miniémulsion est transférée dans un ballon tricol de 100 mL équipé d'un réfrigérant et d'une arrivée d'azote. Le mélange est porté à 70°C sous agitation magnétique et dégazé à l'azote pendant 15 minutes. La polymérisation est initiée par l'ajout d'une solution aqueuse de KPS préalablement dégazée à l'azote (réaction en absence d'oxygène). Les évolutions de la conversion et de la taille des particules au cours de la polymérisation sont suivies par gravimétrie et par DDL respectivement.

Les organolanthanides utilisés dans cette thèse sont tous hydrophobes et solubles dans le monomère comme cela sera détaillé dans le prochain paragraphe. Les différents chélates de lanthanide étudiés ont été dissous dans les différents monomères, et les mélanges polymérisés. Les organolanthanides initialement localisés dans les gouttelettes de monomère devraient ainsi être incorporés dans les

particules finales polymérisées. Si les conditions de la mini émulsion sont rigoureusement respectées, la composition des gouttelettes initiales, supposée uniforme, devrait rester inchangée tout au long de la polymérisation. Ainsi un latex marqué de manière homogène et ne contenant pas de particules « blanches », non chargées, peut être obtenu en théorie. Le principe utilisé pour l'incorporation d'organolanthanides dans des nanoparticules de polymère sans liaison covalente est illustré à la Figure 87.

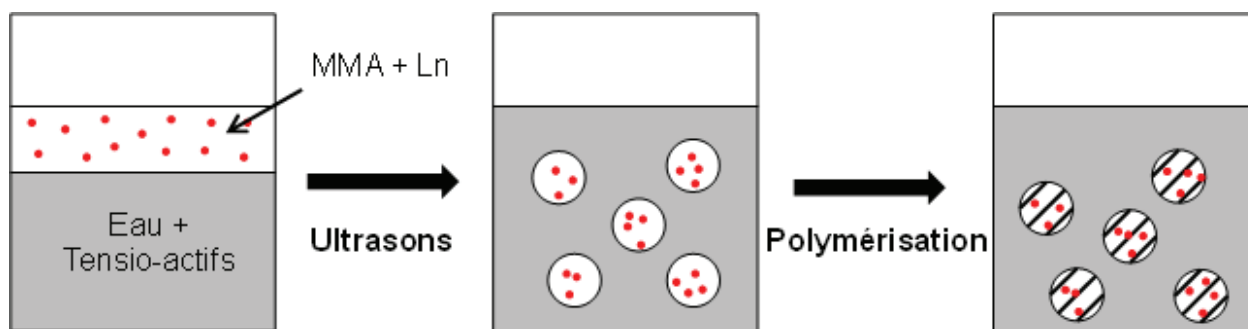


Figure 87 Principe de l'incorporation d'organolanthanides dans des particules de latex par polymérisation en miniémulsion

4.2 Synthèse et caractérisation des organolanthanides

Comme cela a été décrit précédemment, différentes techniques ont été utilisées dans la littérature pour incorporer des organolanthanides dans des nanoparticules de polymère. Parmi elles, l'incorporation de ces molécules sans liaison covalente à la matrice polymère a été retenue. En effet cette méthode s'avère plus simple et plus flexible d'utilisation que le greffage covalent, car elle ne nécessite pas de modification chimique particulière du ligand. L'unique propriété indispensable à ce stade est que le complexe soit soluble dans le monomère considéré. Si on considère les exemples d'incorporation de ce type décrits dans la littérature, il s'avère que tous les organolanthanides utilisés jusqu'ici présentent des structures à caractère « non-ionique ». Ce terme désigne les chélates de lanthanide dont la neutralité chimique n'est pas apportée par des contre-ions externes à la structure même du complexe (i.e. ligands + lanthanide), par opposition aux structures « ioniques ». Dans ce cas, la solubilité du complexe dans le monomère semble suffisante et des latex luminescents ont pu être obtenus. C'est pourquoi, nous avons tout d'abord cherché à incorporer des organolanthanides non ioniques dans des particules de latex afin d'optimiser notre protocole d'incorporation, tout en restant assez proche de ce qui est décrit dans la littérature. Trois organolanthanides à base d'euporium et de terbium ont été ainsi étudiés afin de diversifier les spectres d'émission des particules ainsi obtenues. Dans un deuxième temps un ligand permettant d'exciter la majorité des terres rares a été exploré. En effet dans l'optique de créer des codes optiques, la possibilité de combiner la luminescence des terres rares en utilisant un ligand unique représente un avantage considérable : une seule longueur d'onde d'excitation permet d'avoir accès aux différents spectres d'émission du visible à l'infrarouge. Ce chélate de lanthanide très prometteur possède en revanche un caractère « ionique » contrairement aux précédents. La deuxième partie de ce chapitre est donc consacrée à l'incorporation de ce complexe dans des particules de latex, et plus généralement à évaluer l'influence de la structure de la molécule sur l'incorporation. Il est en effet

important d'évaluer les éventuelles limites de l'incorporation sans liaison covalente par polymérisation en miniémulsion. Comme il est attendu que le mécanisme d'encapsulation dépende davantage de la nature du ligand que du type de lanthanide, seul le complexe d'euporium a été étudié dans ce chapitre. L'utilisation de ce ligand avec différentes terres rares pour le codage a été détaillée dans le chapitre 4. Une meilleure connaissance des mécanismes d'incorporation par polymérisation en miniémulsion pourrait permettre d'élargir la bibliothèque de molécules luminescentes qu'il est possible d'encapsuler par cette méthode.

4.2.1 Complexes à caractère « non-ionique »

Trois complexes « non-ioniques » ont été étudiés. Les deux premiers ont été synthétisés dans le cadre de la thèse d'E. Andreiadis au Laboratoire de Reconnaissance Ionique et de Chimie de Coordination du CEA de Grenoble [94]. Le troisième est un complexe commercial de chez Sigma Aldrich.

➤ Complexes issus de la thèse d'E. Andreiadis : $[\text{Tb}(\text{terpy})(\text{TTA})_2]$ et $[\text{Tb}(\text{terpy})(\text{TFAC})_2]$

Les complexes neutres sont composés d'un carboxylate de terpyridine (terpy) et de deux unités β -dicétones : le 2-thenoyltrifluoroacétone (TTA) ou le trifluoroacetylacétone (TFAC).

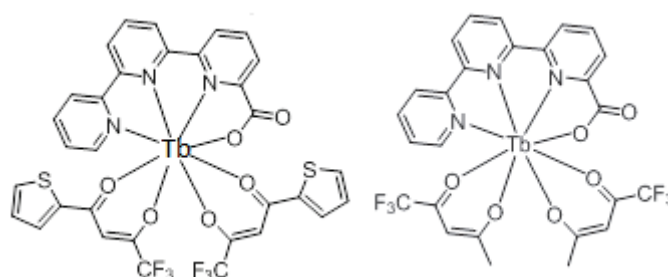


Figure 88 Structure chimique des complexes $[\text{Tb}(\text{terpy})(\text{TTA})_2]$ (à gauche) et $[\text{Tb}(\text{terpy})(\text{TFAC})_2]$ (à droite)

➤ Complexe commercial : $\text{Eu}(\text{dbm})_3(\text{phen})$

Le tris(dibenzoylmethane) mono(1,10-phenanthroline)euporium(III) a été acheté chez Sigma-Aldrich (N° CAS = 17904-83-5) et utilisé tel quel.

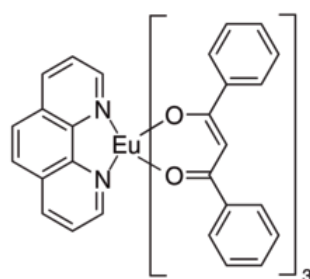


Figure 89 Structure chimique du complexe $\text{Eu}(\text{dbm})_3(\text{phen})$

➤ Dissolution des complexes dans les monomères

Les trois complexes décrits plus hauts ont été introduits dans les trois monomères choisis (Sty, Abu et MMA) pour vérifier leur solubilité. Les différents mélanges ont été ensuite filtrés sur filtre jetable de 0,45 μm et leurs spectres de luminescence enregistrés.

Les complexes $[\text{Tb}(\text{terpy})(\text{TTA})_2]$ et $[\text{Tb}(\text{terpy})(\text{TFAC})_2]$ ne sont pas solubles dans le styrène. En revanche, ils le sont dans le MMA et l'Abu et conservent leur luminescence comme le montre la Figure 90.

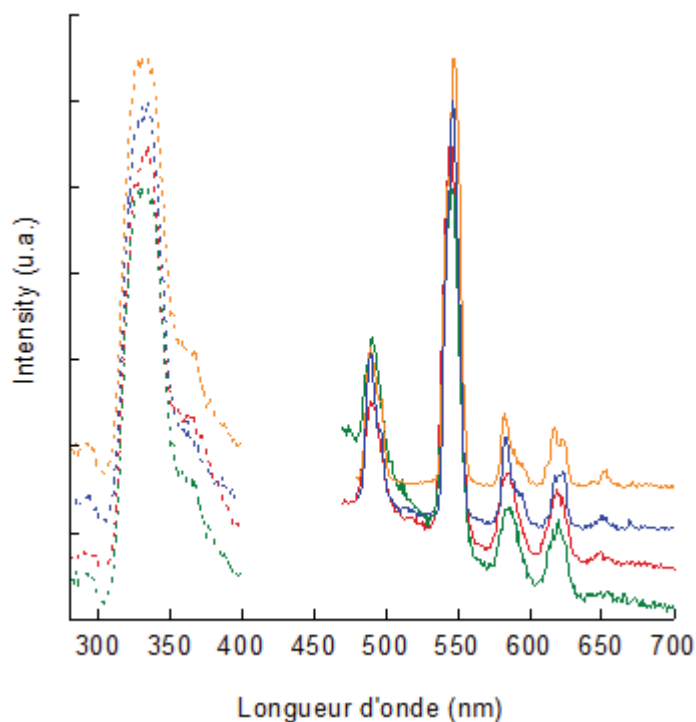


Figure 90 Spectres d'excitation (lignes pointillées) et d'émission (lignes continues) des complexes $[\text{Tb}(\text{terpy})(\text{TTA})_2]$ et $[\text{Tb}(\text{terpy})(\text{TFAC})_2]$ solubilisés dans l'Abu (vert et bleu respectivement) et le MMA (rouge et orange). Les spectres d'excitation ont été enregistrés à 544 nm et les spectres d'émission à 332 nm.

Le complexe $\text{Eu}(\text{dbm})_3(\text{phen})$ est soluble quant à lui dans le styrène et dans le MMA et les solutions obtenues sont également toujours luminescentes (Figure 91). L'Abu n'a pas été testé pour ce complexe.

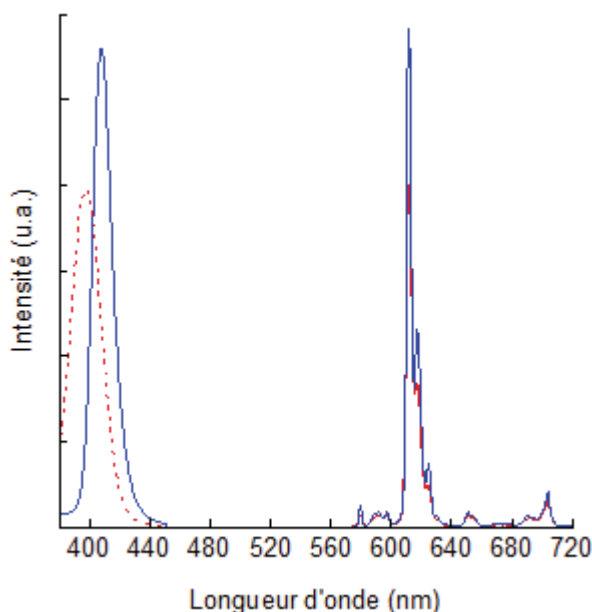


Figure 91 Spectres d'excitation (lignes pointillées) et d'émission (lignes continues) du complexe $\text{Eu}(\text{dbm})_3(\text{phen})$ solubilisé dans le styrène (rouge) et le MMA (bleu). Les spectres d'excitation ont été enregistrés à 612 nm et les spectres d'émission à 398 et à 407 nm pour le styrène et le MMA, respectivement.

4.2.2 Complexe à caractère « ionique »

Le complexe ionique $\text{Eu}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$ a été synthétisé selon un protocole décrit dans la littérature [95]. A une solution de ligand de 2,6-bis-tetrazolyl-pyridine (H_2pytz) (142,84 mg, 0,66 mmol) dans le méthanol (4 mL) est ajoutée une solution de trioctylamine (580 μL , 1,33 mmol) dans le chloroforme (1,5 mL). Une solution de triflate d'euprimum (0,17 mmol) dans le méthanol (4 mL) est ensuite introduite dans le milieu puis le solvant est évaporé. Le complexe (228 mg) est finalement obtenu après séparation sur une colonne de chromatographie d'exclusion stérique (Sephadex LH-20) sous la forme d'une huile visqueuse et translucide avec un rendement global de 74 %. La Figure 92 résume le procédé de synthèse.

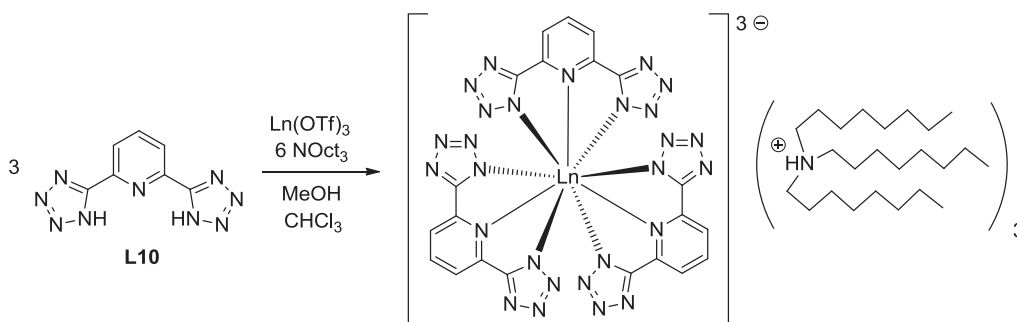


Figure 92 Schéma réactionnel de la synthèse du complexe $\text{Eu}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$

Comme précédemment, le complexe $\text{Eu}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$ a été dissout dans les trois monomères et après filtration sur filtre de 0,45 μm , les différents spectres de luminescence ont été enregistrés (Figure 93).

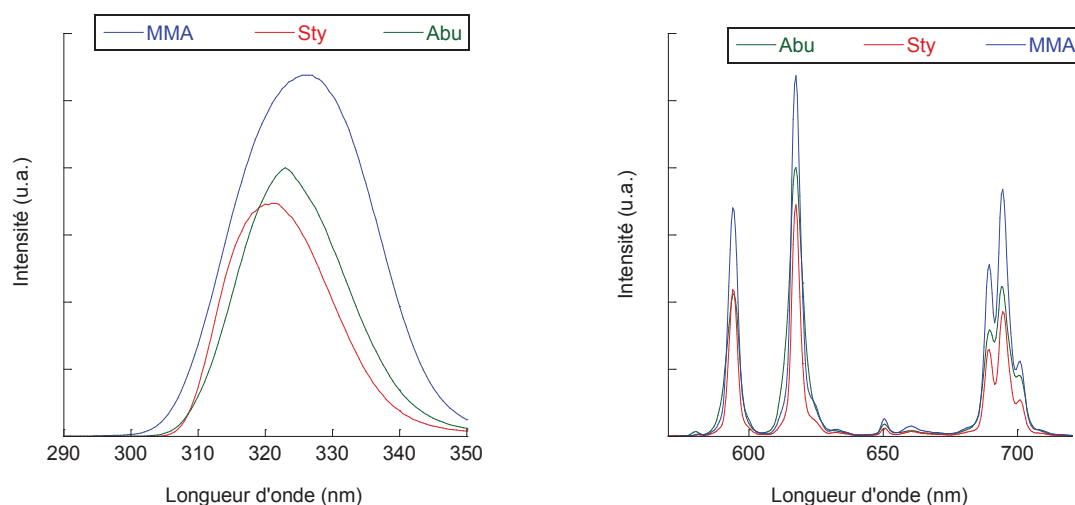


Figure 93 Spectres d'excitation enregistrés à 617 nm (à gauche) pour les différentes solutions de $\text{Eu}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$ filtrées (MMA en bleu, Sty en rouge et Abu en vert). A droite: spectres d'émission associés enregistrés au maximum d'excitation (Abu=323 nm, MMA= 326 nm et Sty = 320 nm).

Le complexe $\text{Eu}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$ est soluble dans les trois monomères testés et ses propriétés de luminescence sont conservées.

4.3 Cas de l'incorporation des organolanthanides « non-ioniques »

Les trois complexes non-ioniques ont été testés avec les différents monomères à l'exception des chélates de terbium, insolubles dans le styrène et du complexe $\text{Eu}(\text{dbm})_3(\text{phen})$ qui a seulement été testé avec le MMA et le styrène. Le suivi des différentes polymérisations est présenté dans un premier temps en fonction des monomères utilisés, puis les propriétés de luminescence des latex finaux sont discutées.

4.3.1 Synthèse des particules de latex

➤ Poly(acrylate) de butyle (PAbu) :

Des particules de PAbu marquées et non marquées ont été synthétisées en utilisant la formulation présentée dans le Tableau 22. Rappelons que seuls les complexes $[\text{Tb}(\text{terpy})(\text{TTA})_2]$ et $[\text{Tb}(\text{terpy})(\text{TFAC})_2]$ ont été étudiés dans ce cas.

Tableau 22 Formulation utilisée lors de la polymérisation en miniémulsion de l'Abu en présence des complexes [Tb(terpy)(TTA)₂] et [Tb(terpy)(TFAC)₂].

Composés	Masse (g)
SDS	0,15
Eau	50
Abu	10
ODA	0,4
[Tb(terpy)(TTA) ₂] / [Tb(terpy)(TFAC) ₂]	0,050/0,025
KPS	0,1

L'incorporation est effectuée selon le protocole décrit précédemment. La solution organique, composée du monomère de l'agent hydrophobe et de l'organolanthanide, est mélangée sous vive agitation à la solution aqueuse de SDS. La miniémulsion est formée après traitement aux ultrasons et la polymérisation est amorcée par ajout d'une solution de KPS à 70°C sous azote. La réaction est stoppée après un peu plus d'une heure et demie de polymérisation. Les caractéristiques (teneur en complexe, diamètre final des particules, conversion et taux de solide) des différents latex synthétisés sont résumées dans le Tableau 23. Le rapport entre le nombre de particules de polymères (Np) et le nombre de gouttelettes de monomère (Ng) a également été calculé (voir annexe). Ce rapport permet d'estimer si les conditions de polymérisation en miniémulsion sont respectées. Dans le cas idéal où chaque gouttelette de monomère se transforme en une particule de polymère (de taille et de composition identique), il est égal à 1. En revanche un rapport **Np/Ng > 1**, indique un phénomène de re-nucléation alors qu'à l'inverse un rapport **Np/Ng < 1** est caractéristique d'un processus de coalescence.

Tableau 23 . Principales caractéristiques des latex de PAbu synthétisés en l'absence et en présence des complexes [Tb(terpy)(TTA)₂] (noté TTA) et [Tb(terpy)(TFAC)₂] (noté TFAC)

	Teneur en complexe ^{a)} (% poids)	Diamètre des gouttelettes initiales ^{b)} (nm)	Diamètre des particules finales ^{b)} (nm)	Indice de Polydispersité des particules finales ^{b)}	Np/ Ng	Conversion (%)	Taux de solide (%)
Blanc	0	71	107	0,05	0,22	96,7	17,0
TTA	0,5	64	96	0,06	0,24	88,0	15,4
TFAC	0,25	65	95	0,08	0,25	95,7	16,4

^{a)} Calculé par rapport au monomère. ^{b)} Mesuré par DDL.

Les rapports Np/Ng indiquent que la polymérisation ne respecte pas les conditions d'un polymérisation en miniémulsion. En effet les valeurs sont inférieures à 1 ce qui indiquent qu'il y a moins de particules finales que de gouttelettes initiales. Il y a donc eu des phénomènes de coalescence pendant la polymérisation, soit entre deux gouttelettes soit entre gouttelettes et particules. Cet effet est moins dommageable que la re-nucléation (Np/Ng > 1) où de nouvelles particules, ne contenant pas d'organolanthanide, seraient créées pendant la polymérisation. Dans notre cas, les particules, même si elles sont un peu plus grosses que les gouttelettes initiales, devraient toutes contenir le chélate. La présence du complexe ne semble en revanche pas perturber significativement les caractéristiques des particules de latex comme indiqué par les valeurs

relativement similaires entre le blanc et les latex dopés (Tableau 23). Les courbes représentant l'évolution de la conversion et du diamètre des particules au cours du temps pour les trois expériences, sont reportées sur la Figure 94 et la Figure 95.

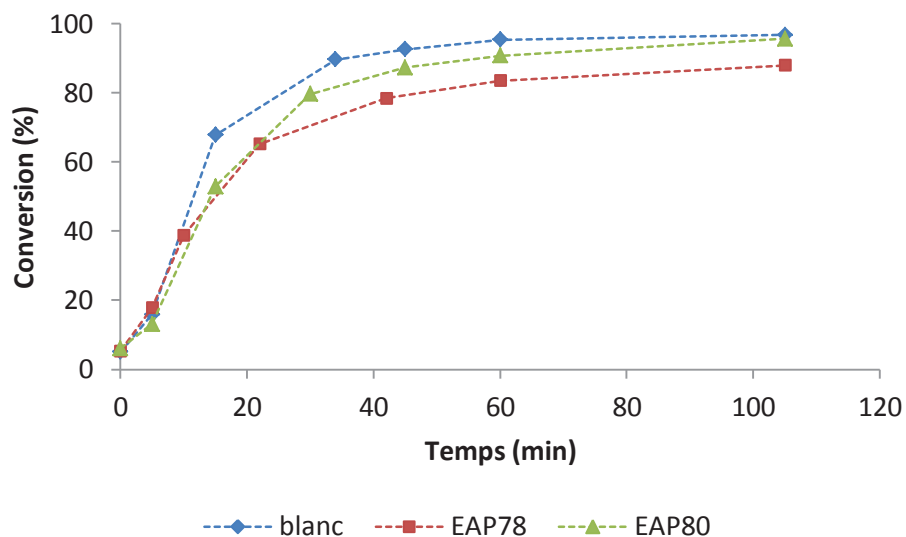


Figure 94 Evolution de la conversion en fonction du temps au cours de la polymérisation en miniémulsion de l'Abu en l'absence et en présence des complexes $[Tb(terpy)(TTA)_2]$ et $[Tb(terpy)(TFAC)_2]$.

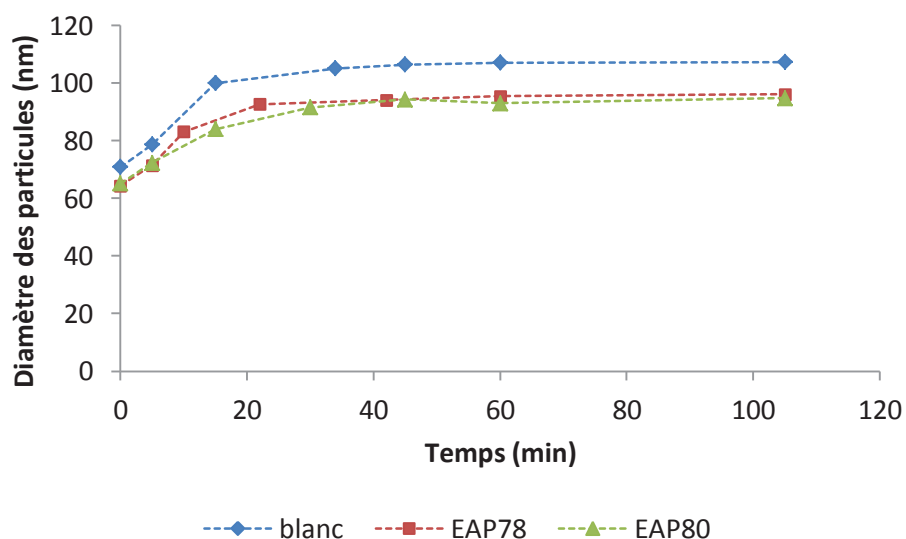


Figure 95 Evolution du diamètre des particules en fonction du temps au cours de la polymérisation en miniémulsion de l'Abu en l'absence et en présence des complexes $[Tb(terpy)(TTA)_2]$ et $[Tb(terpy)(TFAC)_2]$.

Les cinétiques de polymérisation observées sont similaires et le fait d'ajouter un complexe de lanthanide à la formulation ne semble pas affecter le déroulement de la polymérisation. La réaction atteint 80 % de conversion en moins d'une heure dans les trois cas avant de se stabiliser. Les valeurs de conversion maximales semblent légèrement diminuer avec la quantité de complexes introduite.

Néanmoins étant donné que le débit d'azote lors de ces polymérisations était mal maîtrisé, il est aussi possible qu'un débit trop important ait entraîné l'évaporation d'une partie du monomère.

L'évolution de la taille des particules est elle aussi similaire et les organolanthanides ne semblent pas influencer non plus le mécanisme de nucléation des gouttelettes. En revanche l'augmentation de la taille des particules au cours de la polymérisation témoigne d'un important phénomène de coalescence pour une polymérisation en miniémulsion. La taille des particules augmente dans les trois cas au cours des 20 premières minutes de la réaction, jusqu'à environ 60-70% de conversion, avant de se stabiliser. Ce phénomène peut être attribué au fait que la stabilisation des gouttelettes de monomère nécessite moins de tensioactifs que celle des particules. Cela peut également venir de la relative polydispersité des gouttelettes après le traitement aux ultrasons. Des gouttelettes, de tailles trop faibles (instables), peuvent avoir été générées pendant cette étape et disparaître en début de polymérisation en fusionnant avec les plus grosses. Dans le cadre de notre étude ce phénomène est cependant moins dommageable que l'effet inverse, la re-nucléation, qui pourrait mener à une population de billes non marquées. La qualité de ces latex a donc été jugée suffisante pour l'application désirée. En effet après les 20 premières minutes de réaction, la taille des particules ne varie plus indiquant une certaine stabilité du système. De plus les latex finaux ont une distribution de taille de particules relativement étroite (indices de polydispersité inférieurs à 0,1. Tableau 23), et des conversions élevées.

➤ Polystyrène (PS) :

Des particules de PS marquées et non marquées ont été synthétisées en utilisant la formulation présentée dans le Tableau 24. Parmi les trois organolanthanides « non-ioniques » étudiés, seul le complexe $\text{Eu}(\text{dbm})_3(\text{phen})$ est soluble dans le styrène. C'est donc le seul qui a été utilisé dans ce cas.

Tableau 24 Formulation utilisée lors de la polymérisation en miniémulsion du styrène en présence du complexe non ionique $\text{Eu}(\text{dbm})_3(\text{phen})$

Composés	Masse (g)
SDS	0,15
Eau	50
Sty	10
ODA	0,4
$\text{Eu}(\text{dbm})_3(\text{phen})$	0,050
KPS	0,1

Comme précédemment l'évolution de la conversion (Figure 96), et de la taille des particules (Figure 97) en fonction du temps a été suivie en l'absence et en présence du complexe.

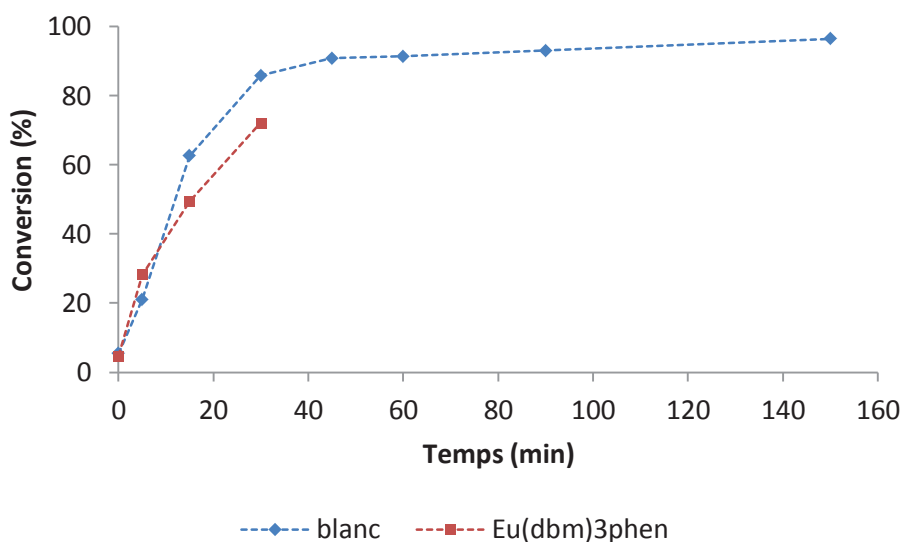


Figure 96 Evolution de la conversion en fonction du temps au cours de la polymérisation en miniémulsion du styrène en l'absence et en présence du complexe Eu(dbm)3phen.

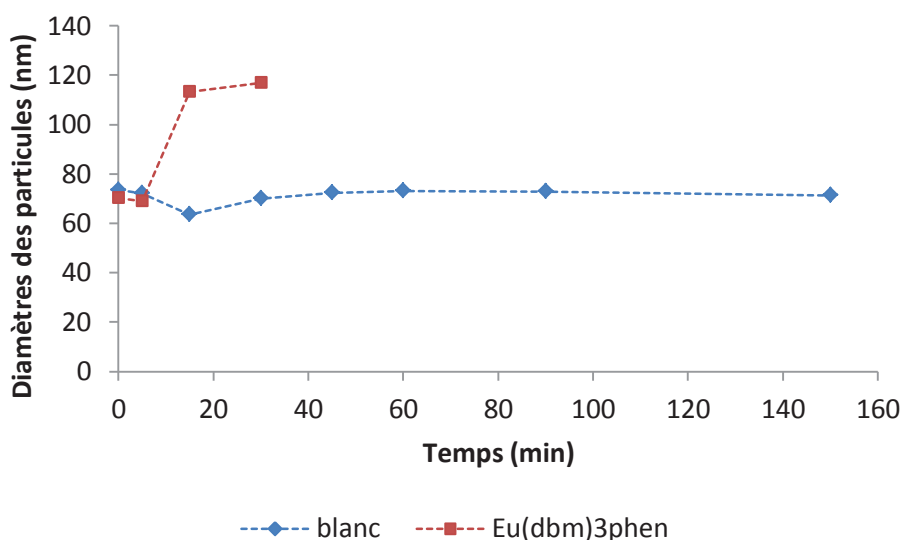


Figure 97 Evolution du diamètre des particules en fonction du temps au cours de la polymérisation en miniémulsion du styrène en l'absence et en présence du complexe Eu(dbm)3phen.

La polymérisation en miniémulsion du styrène sans Eu(dbm)₃phen s'est déroulée normalement, atteignant plus de 95 % de conversion après deux heures (Figure 96). La taille des gouttelettes de monomère initiales et des particules finales de polymère reste globalement constante indiquant que les conditions de la miniémulsion sont bien respectées (Figure 97). En revanche en présence de Eu(dbm)₃(phen), la polymérisation n'a pas pu être menée à terme à cause d'une prise en masse après environ 30 minutes de réaction. La polymérisation a dû être stoppée car le barreau aimanté était figé dans une matière collante et visqueuse de couleur jaune au fond du ballon. La couleur de ce dépôt (Eu(dbm)₃(phen) se présente sous la forme d'une poudre jaune-orangée) laisse penser qu'une déstabilisation due à l'interaction entre le polystyrène et le complexe a eu lieu. Cette interaction défavorable a semble-t-il provoquée une coagulation suivie d'une précipitation entraînant la prise en

masse du barreau aimanté. Le suivi par DDL de l'évolution du diamètre des particules au cours du temps montre aussi une nette augmentation de la taille des objets avant l'arrêt de la polymérisation quand l' $\text{Eu}(\text{dbm})_3(\text{phen})$ est ajouté à la formulation. De plus l'indice de polydispersité est anormalement élevé (Tableau 25) contrairement aux particules non marqués. Tous ces éléments témoignent d'une instabilité de la miniémulsion au cours de la polymérisation dans le cas où $\text{Eu}(\text{dbm})_3(\text{phen})$ est utilisé. Cette instabilité pourrait être causée par des interactions entre les cycles du styrène et la phénanthroline du complexe d'euporium. Ce point particulier n'a pas été plus étudié mais il permet de souligner que malgré la bonne solubilité du complexe dans le styrène l'incorporation a échoué.

Tableau 25 Comparaison de l'évolution de l'indice de polydispersité au cours du temps lors de la polymérisation en miniémulsion du styrène avec ou sans $\text{Eu}(\text{dbm})_3(\text{phen})$.

Temps (min)	Blanc	$\text{Eu}(\text{dbm})_3(\text{phen})$
0	0,27	0,30
5	0,27	0,22
15	0,08	0,41
30	0,05	0,33

➤ Poly(méthacrylate) de méthyle (PMMA):

La formulation utilisée pour la synthèse des latex de PMMA non marqués et marqués par les trois complexes non ioniques est indiquée dans le Tableau 26 tandis que le Tableau 27 résume les principales caractéristiques des quatre latex ainsi synthétisés. La seule différence dans la formulation par rapport au PABu et au PS est la quantité de tensioactif qui est deux fois plus faible dans ce cas, mais qui est suffisante pour obtenir des tailles de gouttelettes similaires.

Tableau 26 Formulation utilisée lors de la polymérisation en miniémulsion du MMA en présence des trois complexes non ioniques: $[\text{Tb}(\text{terpy})(\text{TTA})_2]$ (TTA), $[\text{Tb}(\text{terpy})(\text{TFAC})_2]$ (TFAC) et $\text{Eu}(\text{dbm})_3(\text{phen})$.

Composés	Masse (g)
SDS	0,075
Eau	50
MMA	10
ODA	0,4
TTA/TFAC/ $\text{Eu}(\text{dbm})_3(\text{phen})$	0,050/0,025/0,050
KPS	0,1

Tableau 27 Principales caractéristiques des latex de PMMA synthétisés en l'absence et en présence des trois complexes non ioniques: [Tb(terpy)(TTA)₂] (noté TTA), [Tb(terpy)(TFAC)₂] (noté TFAC) et Eu(dbm)₃phen.

	Teneur en complexe ^a (% poids)	Diamètre des gouttelettes initiales ^b (nm)	Diamètre des particules finales ^b (nm)	Indice de Polydispersité des particules finales ^b	Np/ Ng	Conversion (%)	Taux de solide (%)
Blanc	0	78	96	0,04	0,45	86,8	15,4
TTA	0,5	81	104	0,02	0,39	91,4	16,2
TFAC	0,25	94	108	0,02	0,53	95,5	16,8
Eu(dbm) ₃ phen	0,5	90	99	0,02	0,62	88,6	15,4

^a) Calculé par rapport au monomère. ^b) Mesuré par DDL.

L'évolution de la conversion et de la taille des particules en fonction du temps pour les différentes configurations sont présentées à la Figure 98 et à la Figure 99 respectivement.

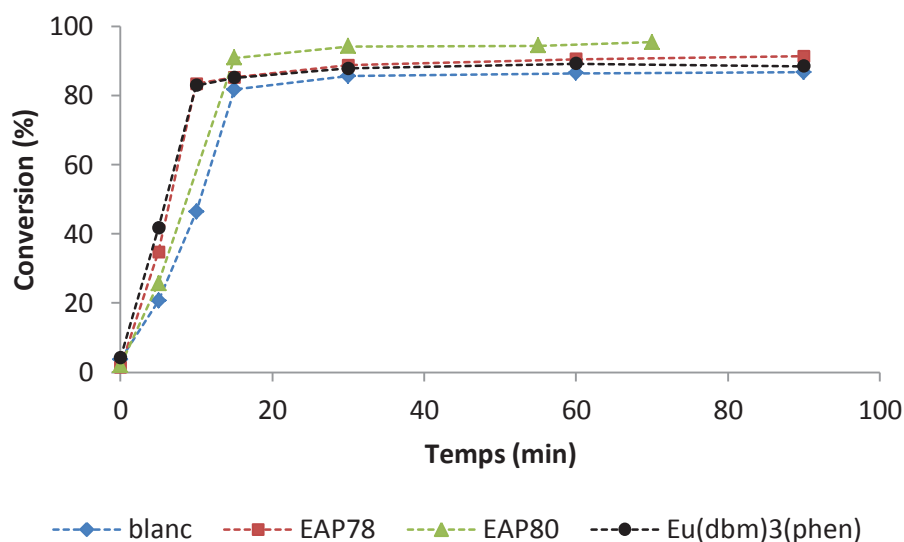


Figure 98 Evolution de la conversion en fonction du temps au cours de la polymérisation en miniémulsion du MMA en l'absence et en présence des différents complexes de lanthanides

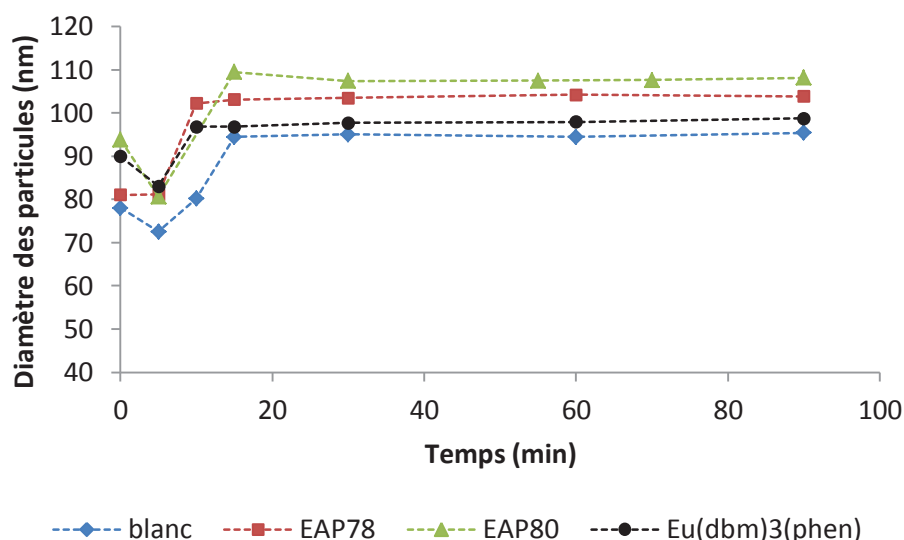


Figure 99 Evolution du diamètre des particules en fonction du temps au cours de la polymérisation en miniémulsion du MMA en l'absence et en présence des différents complexes de lanthanide

Les conversions finales ne sont pas totales mais néanmoins un plateau est atteint après 30 minutes de polymérisation. La conversion n'évoluant ensuite quasiment plus on peut conclure que la réaction est probablement terminée. D'autre part, les complexes de lanthanide ne semblent pas influencer la polymérisation puisque le même comportement est observé pour le latex blanc. Ces conversions légèrement inférieures à 100% semblent donc plutôt provenir tout comme précédemment d'un débit d'azote trop fort pendant la polymérisation, ce qui a entraîné l'évaporation d'une partie du MMA.

L'évolution de la taille des particules pendant la polymérisation ne semble pas être non plus influencée par la présence des différents complexes. Les différences observées en DDL sont en effet trop faibles pour être discutées. De plus comme cela a été précédemment observé pour le PABu on observe un phénomène de coalescence qui ne se manifeste cependant pas dès le début de la polymérisation dans ce cas. Pour le PMMA une rapide diminution de la taille des particules précède le phénomène de coalescence pendant les premières minutes de polymérisation. Cet effet a déjà été observé dans la littérature et a été attribué à un phénomène de re-nucléation [29]. Il est suivi d'une légère augmentation de la taille des particules par coalescence. En effet la création de ces nouvelles particules implique une redistribution des molécules de tensioactif aux interfaces qui ne sont alors plus assez nombreuses pour stabiliser efficacement le système, ce qui entraîne une augmentation de la taille des particules par coalescence. Le rapport N_p/N_g est par conséquent légèrement inférieur à 1 (Tableau 27), mais comme cela a été expliqué précédemment ce comportement n'est pas rédhibitoire pour obtenir des latex dopés de façon uniforme. Les latex finaux sont de plus bien monodisperses (indices de polydispersité inférieurs à 0,1 voir Tableau 27), et les conversions atteintes sont élevées.

En résumé, différents latex synthétisés par polymérisation en miniémulsion et stabilisés par le SDS ont été obtenus. Les latex finaux sont monodisperses et la présence des organolanthanides ne semble pas affecter la polymérisation aux concentrations testées, à l'exception de l' $\text{Eu}(\text{dbm})_3(\text{phen})$ dans le cas du PS. Dans ce cas, l'incorporation a probablement échoué à cause d'interactions défavorables entre le complexe et le polymère. De manière générale, la polymérisation ne respecte pas les conditions idéales d'une polymérisation en miniémulsion puisque les particules formées sont

plus grosses que les gouttelettes initiales suggérant l'occurrence d'un processus de coalescence. Ce phénomène de coalescence, qui a été systématiquement observé, est toutefois moins dommageable que la re-nucléation où des particules blanches auraient pu être obtenues. Les conversions atteintes sont de plus élevées dans tous les cas. La présence des complexes de lanthanide n'a donc visiblement pas affecté le mécanisme de la polymérisation et des latex de bonne qualité ont pu être obtenus. Afin de s'assurer que les latex de PAbu et de PMMA contiennent effectivement les différents complexes de lanthanide, ils ont été dialysés pendant deux jours dans l'eau distillée pour éliminer les complexes de lanthanide non incorporés. La luminescence des latex ainsi lavés a été ensuite étudiée.

4.3.2 Propriétés de luminescence des particules de latex

➤ Poly(acrylate) de butyle :

Les spectres d'excitation et d'émission des latex de PAbu dialysés, marqués avec $[\text{Tb}(\text{terpy})(\text{TTA})_2]$ ou $[\text{Tb}(\text{terpy})(\text{TFAC})_2]$ sont représentés sur la Figure 100.

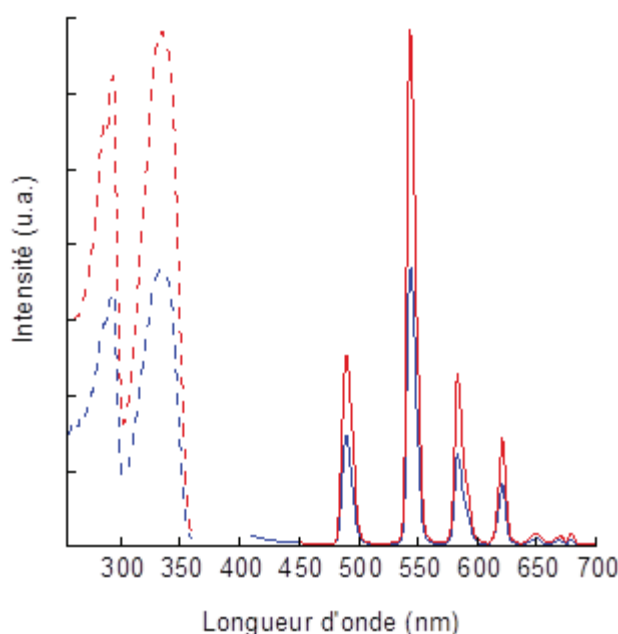


Figure 100 Spectres d'excitation (lignes pointillées) et d'émission (lignes continues) des latex de PAbu dialysés et marqués avec $[\text{Tb}(\text{terpy})(\text{TTA})_2]$ (rouge) et $[\text{Tb}(\text{terpy})(\text{TFAC})_2]$ (bleu). Les spectres d'excitation ont été enregistrés à 544 nm et les spectres d'émission à 332 nm.

L'émission caractéristique du terbium est observée pour les deux latex de PAbu marqués soit avec $[\text{Tb}(\text{terpy})(\text{TTA})_2]$ soit avec $[\text{Tb}(\text{terpy})(\text{TFAC})_2]$. Les spectres d'émission sont inchangés par rapport à ceux enregistrés dans l'Abu. De plus comme la dialyse n'a pas fait disparaître le signal de luminescence, on peut considérer que les complexes sont bien localisés à l'intérieur des particules. Ceci confirme que les deux complexes de terbium ont été correctement incorporés dans les particules de PAbu.

➤ Poly(méthacrylate) de méthyle :

Les spectres d'excitation et d'émission des latex de PMMA dialysés, marqués avec $[\text{Tb}(\text{terpy})(\text{TTA})_2]$ ou $[\text{Tb}(\text{terpy})(\text{TFAC})_2]$ sont représentés sur la Figure 101.

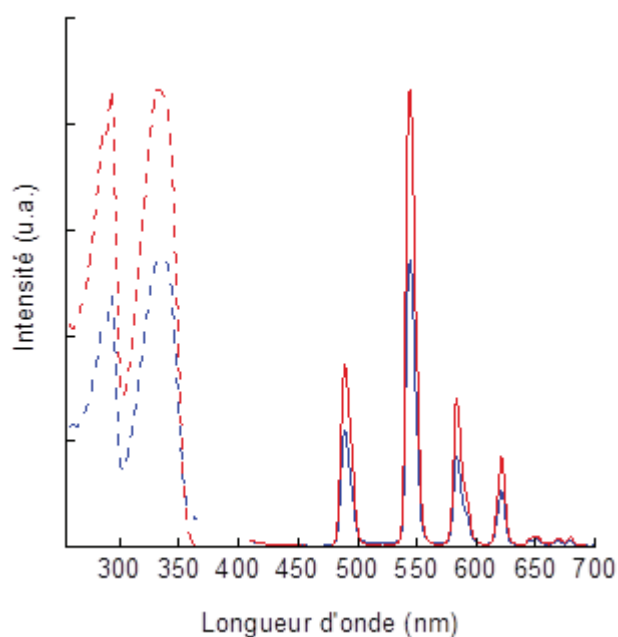


Figure 101 Spectres d'excitation (lignes pointillées) et d'émission (lignes continues) des latex de PMMA dialysés et marqués avec $[\text{Tb}(\text{terpy})(\text{TTA})_2]$ (rouge) et $[\text{Tb}(\text{terpy})(\text{TFAC})_2]$ (bleu). Les spectres d'excitation ont été enregistrés à 544 nm et les spectres d'émission à 332 nm.

A nouveau, l'émission caractéristique du terbium est observée pour les deux latex de PMMA marqués et les spectres d'émission sont inchangés par rapport à ceux enregistrés dans le MMA. Après la dialyse les latex sont toujours luminescents, ce qui indique que les complexes ont bien été incorporés pendant la polymérisation en miniémulsion, comme précédemment observé pour le PABu.

Les spectres d'excitation et d'émission des latex de PMMA dialysés, marqués avec $\text{Eu}(\text{dbm})_3(\text{phen})$ sont également représentés sur la Figure 102.

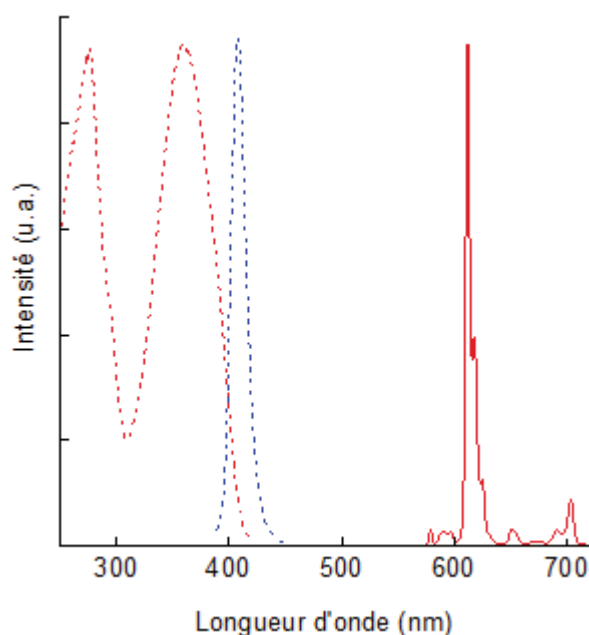


Figure 102 Spectres d'excitation (lignes pointillées) et d'émission (ligne continue) du complexe $\text{Eu}(\text{dbm})_3(\text{phen})$ dans le PMMA dialysé (rouge) et le MMA (bleu). Les spectres d'excitation ont été enregistrés à 612 nm et les spectres d'émission ont été enregistrés à 360 nm pour le PMMA marqué et à 407 nm quand $\text{Eu}(\text{dbm})_3(\text{phen})$ est dans le MMA.

Le latex de PMMA dopé avec $\text{Eu}(\text{dbm})_3(\text{phen})$ est toujours luminescent après la dialyse, indiquant là encore que le complexe est bien localisé à l'intérieur des particules. Le spectre d'émission est inchangé par rapport à celui enregistré dans le MMA. En revanche contrairement aux cas précédents, on observe ici un décalage du spectre d'excitation vers les plus hautes énergies. Le PMMA absorbe également dans la région UV et des interactions entre le complexe et la matrice polymère semblent avoir lieu. Il semblerait donc que le complexe $\text{Eu}(\text{dbm})_3(\text{phen})$ soit davantage influencé par son environnement chimique que les complexes $[\text{Tb}(\text{terpy})(\text{TTA})_2]$ et $[\text{Tb}(\text{terpy})(\text{TFAC})_2]$.

En conclusion, les deux complexes « non-ioniques » $[\text{Tb}(\text{terpy})(\text{TTA})_2]$ et $[\text{Tb}(\text{terpy})(\text{TFAC})_2]$, initialement solubles dans le MMA et l'Abu ont été incorporés avec succès dans les latex correspondants. En revanche le complexe $\text{Eu}(\text{dbm})_3(\text{phen})$, bien qu'il soit soluble dans le MMA et le styrène n'a pu être incorporé que dans le PMMA. Dans le cas du styrène la polymérisation n'a pas pu être menée à terme probablement à cause d'interactions défavorables entre ce complexe et le PS. Dans les autres cas les organolanthanides conservent leurs propriétés d'émission une fois incorporés dans les particules de latex indiquant que leur structure n'est pas affectée. Ces résultats sont en accord avec les précédentes études sur le sujet : la solubilité du complexe dans le monomère est le principal pré-requis. En effet si le complexe est soluble dans la phase monomère et que la polymérisation en miniémulsion est menée à terme correctement, le latex obtenu est bien luminescent et le spectre d'émission est inchangé.

Le comportement du complexe « ionique » $\text{Eu}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$ va à présent être étudié selon la même méthodologie. Il s'agit ici de vérifier que la solubilité dans le monomère permet l'incorporation d'un complexe de lanthanide possédant une structure chimique légèrement différente, comme cela a été suggéré précédemment et dans différents exemples de la littérature.

4.4 Cas de l'incorporation d'un organolanthanide à caractère « ionique »

4.4.1 Synthèse des particules de latex

Les mêmes protocoles ayant permis l'incorporation des complexes non-ioniques ont été utilisés pour l'incorporation de 50 mg du complexe « ionique » $\text{Eu}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$ dans chacun des trois polymères.

Les caractéristiques des différentes expériences de polymérisation réalisées sont résumées dans le Tableau 28.

Tableau 28 Caractéristiques des différentes expériences de polymérisation réalisées dans le cas du complexe ionique $\text{Eu}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$.

Monomère	Teneur en complexe ^{a)} (% poids)	Diamètre des gouttelettes initiales ^{b)} (nm)	Diamètre des particules finales ^{b)} (nm)	Indice de polydispersité des particules finales ^{b)}	Np/Ng	Conversion (%)	Taux de solide (%)
MMA	0,5	88	95	0,01	0,63	98,7	17,1
Styrène	0,5	79	87	0,02	0,66	95,5	16,7
Abu	0,5	76	83	0,06	0,60	93,5	15,9

^{a)} Calculé par rapport au monomère. ^{b)} Mesuré par DDL.

L'évolution de la conversion et du diamètre des particules en fonction du temps pour ces différentes expériences sont présentées sur les Figure 103 et Figure 104, respectivement.

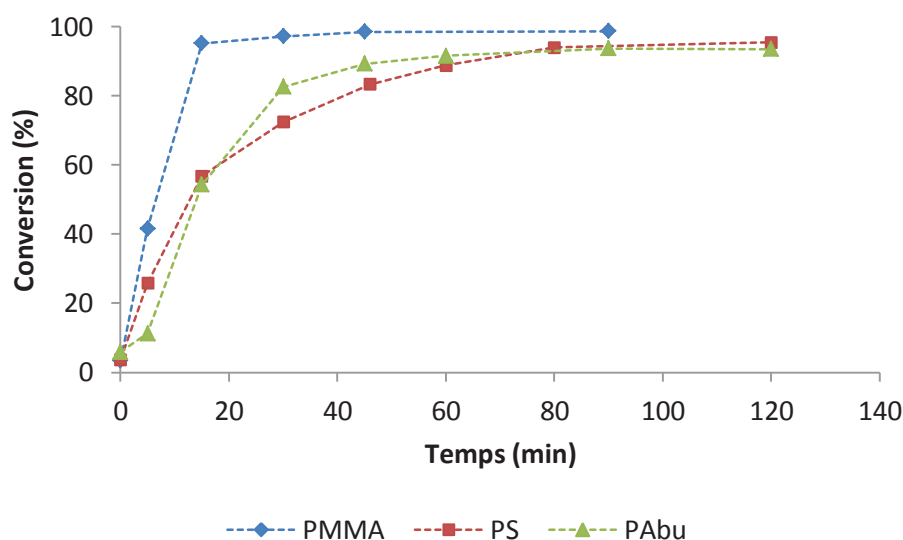


Figure 103 Evolution de la conversion en fonction du temps au cours de la polymérisation en miniémulsion du MMA, du styrène et de l'Abu en présence de 0.5 % (en masse par rapport au monomère) du complexe ionique $\text{Eu}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$.

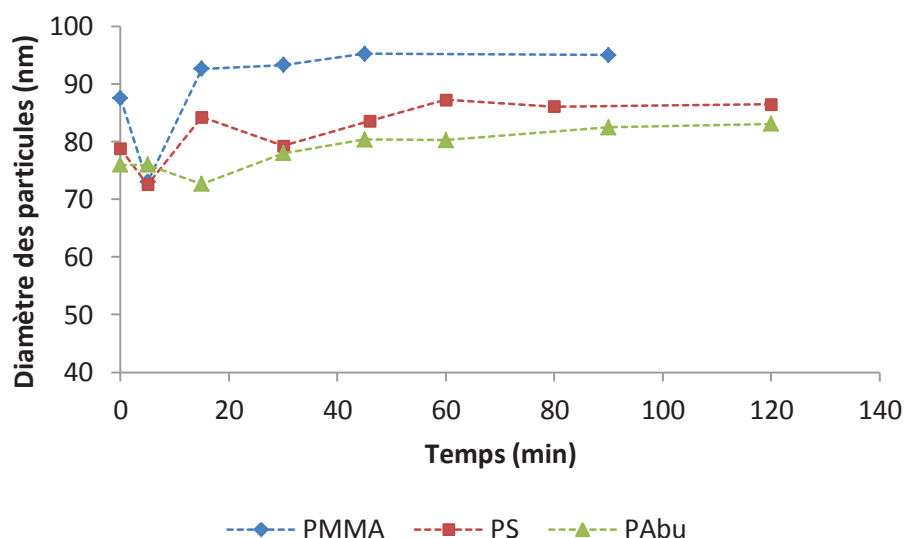


Figure 104 Evolution du diamètre des particules en fonction du temps au cours de la polymérisation en miniémulsion du MMA, du styrène et de l'ABu en présence de 0.5 % (en masse par rapport au monomère) du complexe ionique $\text{Eu}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$.

Les polymérisations réalisées en présence du complexe « ionique » présentent les mêmes comportements que ceux observés pour les complexes « non-ioniques ». Le même phénomène de coalescence a été observé pour les trois polymères comme indiqué par les rapports N_p/N_g qui sont tous inférieurs à 1 (Voir Tableau 28). Dans le cas du PMMA et du PS, la coalescence est précédée d'une légère re-nucléation au début de la polymérisation. Un comportement analogue a déjà été observé pour les polymérisations effectuées en l'absence de complexe dans le cas du styrène (Figure 97) et en présence des complexes ioniques dans le cas du MMA (Figure 99), et n'est donc pas dû à la présence d' $\text{Eu}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$. Les tailles des gouttelettes et des particules finales sont également en accord avec celles trouvées précédemment. Il semble donc que la présence du complexe « ionique » ne perturbe pas le déroulement de la réaction de polymérisation en miniémulsion et n'affecte pas non plus le mécanisme de polymérisation.

4.4.2 Propriétés de luminescence des particules de latex

Afin de vérifier que le complexe à caractère « ionique » $\text{Eu}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$ a été effectivement incorporé dans les particules de polymère, les différents latex obtenus ont été dialysés dans l'eau pendant 48h. La luminescence des latex ainsi lavés a été ensuite enregistrée. Mais contrairement aux complexes « non-ioniques » testés précédemment, il s'avère que les latex de PMMA, PABu et PS dialysés ne sont plus luminescents. Les complexes ont donc tous été éliminés pendant la dialyse, indiquant que l'incorporation de $\text{Eu}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$ a échoué pour les trois monomères étudiés.

Le complexe n'étant pas chimiquement lié au polymère, il est possible que celui-ci diffuse progressivement à l'extérieur des particules lors de la dialyse si son affinité pour le polymère n'est pas suffisante. Pour vérifier cette hypothèse, les particules ont été réticulées et un contre-ion polymérisable a été utilisé. Comme nous avons montré que la nature du polymère ne semblait pas avoir d'influence sur l'incorporation du complexe « ionique », seul le PMMA a été utilisé dans cette partie. Les particules ont été réticulées en ajoutant à la formulation du diméthacrylate de glycérol solubilisé dans le MMA (2 % en masse par rapport au monomère). La rigidification des particules devrait ralentir l'éventuelle diffusion du complexe. Dans un deuxième temps, nous avons remplacé

les contre-ions trioctylammonium par des contre-ions possédant une fonction méthacrylate copolymérisable. On se rapproche ainsi d'une incorporation par liaison covalente. Le méthacrylate de 2-(diméthylamino)éthyle (DMAM) a donc été utilisé pour remplacer la trioctylamine (Figure 105).

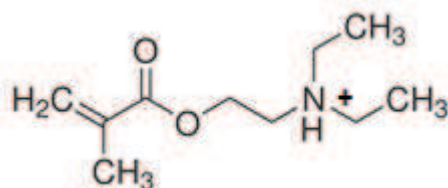


Figure 105 Structure chimique du contre-ion polymérisable substitué aux ions trioctylammonium, le méthacrylate de 2-(diméthylamino)éthyle (DMAM)

Cependant la substitution de la totalité des ions trioctylammonium par la DMAM rend le complexe insoluble dans le MMA. En plus de stabiliser le complexe, les ions trioctylammonium, grâce à leurs longues chaînes alkyles, leur apportent également leur solubilité dans les monomères. C'est pourquoi un mélange équimolaire de DMAM et d'ions trioctylammonium a été finalement utilisé pour former le complexe d'euporium. Dans ces conditions, le complexe est bien soluble dans le MMA et la présence de contre-ions copolymérisables devrait réduire la mobilité du complexe et l'empêcher de migrer à l'extérieur des particules.

Deux séries de latex réticulés ont ainsi été synthétisées. Dans un cas, le complexe ionique est stabilisé uniquement par les ions trioctylammonium tandis que dans l'autre cas, il est stabilisé par un mélange de DMAM et de trioctylammonium. Les caractéristiques des latex obtenus sont résumées au Tableau 29 tandis que les courbes de conversion et de taille des particules en fonction du temps sont présentées à la Figure 106 et à la Figure 107, respectivement.

Tableau 29 Caractéristiques des différentes polymérisations en fonction des contre-ions utilisés : trioctylammonium seul (NHOct₃) ou mélangé avec du méthacrylate de 2-(diméthylamino)éthyle (NHOct₃ + DMAM).

	NHOct ₃	NHOct ₃ + DMAM
Pourcentage massique de complexe ^{a)} (%)	0,5	0,5
Diamètre des gouttelettes initiales ^{b)} (nm)	109	123
Diamètre des particules finales ^{b)} (nm)	108	128
Indice de Polydispersité des particules finales ^{b)}	0,06	0,04
Np/Ng	0,85	0,73
Conversion (%)	94,8	95,1
Taux de solide (%)	15,9	16,5

^{a)} Calculé par rapport au monomère. ^{b)} Mesuré par DDL.

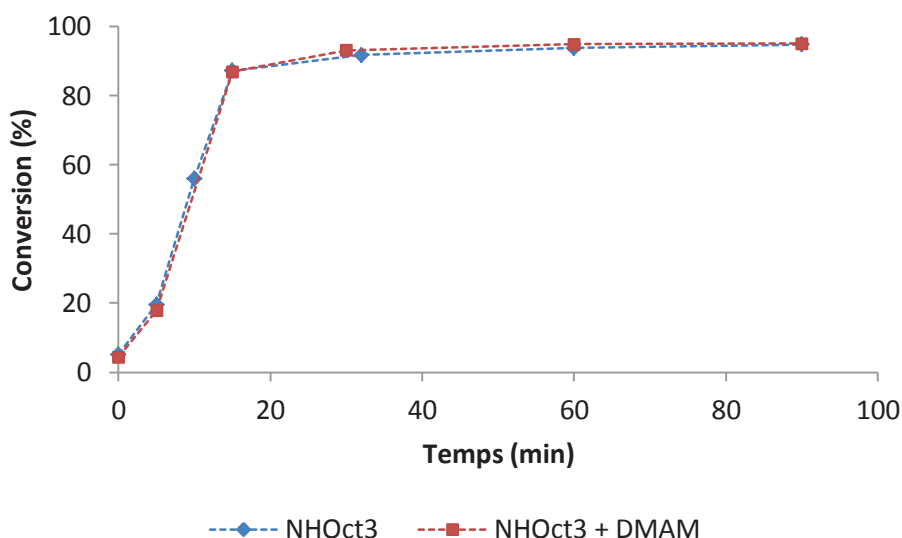


Figure 106 Evolution de la conversion en fonction du temps au cours de la polymérisation en miniémulsion du MMA effectuée en présence de réticulant et du complexe ionique stabilisé soit uniquement par les ions trioctylammonium (i.e. NHOct_3) soit par un mélange équimolaire de NHOct_3 et de DMAM.

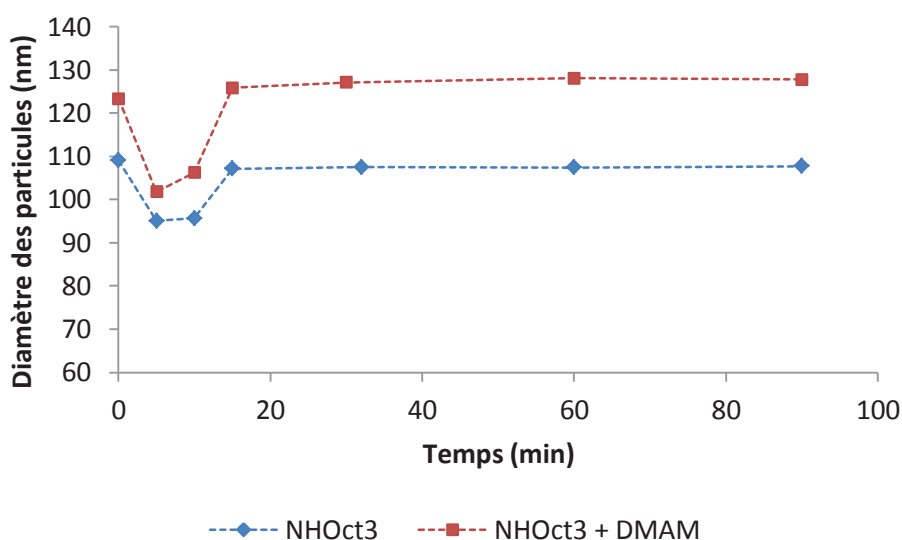


Figure 107 Evolution du diamètre des particules en fonction du temps au cours de la polymérisation en miniémulsion du MMA effectuée en présence de réticulant et du complexe ionique stabilisé soit uniquement par les ions trioctylammonium (i.e. NHOct_3) soit par un mélange équimolaire de NHOct_3 et de DMAM.

Les polymérisations en miniémulsion se sont déroulées normalement dans les deux cas. La différence de taille observée est difficilement interprétable vu l'incertitude de la mesure par DDL. Cependant le plus important est de noter que l'évolution de la taille des particules est identique dans les deux cas. L'écart de taille des particules finales est donc dû à la taille initiale des gouttelettes et non à des mécanismes de nucléation ou/et de croissance différents. L'important ici étant avant tout de vérifier l'influence de la réticulation et de l'ajout d'un contre-ion polymérisable sur l'incorporation, les latex ont été dialysés pendant 48 h pour éliminer les complexes présents dans la phase aqueuse. Les propriétés de luminescence de ces latex ont ensuite été enregistrées. Comme observé précédemment, il s'avère que ces latex ne sont plus luminescents après la dialyse, indiquant que l'incorporation a une nouvelle fois échoué. La réticulation des particules et l'utilisation de contre-ions

polymérisables n'ont donc pas empêché la migration du complexe ionique à l'extérieur des particules.

4.5 Conclusion

Trois complexes différents de nature « non-ionique » ont été incorporés avec succès dans les différents monomères en fonction de leur solubilité respective. Dans tous les cas, les complexes ont été encapsulés sans liaison covalente et leur solubilité dans la phase monomère semble être le seul pré-requis nécessaire à une incorporation réussie. Il faut cependant noter le cas particulier du mélange $\text{Eu}(\text{dbm})_3(\text{phen})/\text{styrène}$, qui n'a pas permis de former un latex stable probablement à cause d'interactions défavorables entre le complexe et le polymère. Les organolanthanides utilisés pour la synthèse de latex luminescents qui ont été décrits jusqu'à présent dans la littérature possèdent également des structures « non ioniques ». Nos résultats sont donc en parfait accord avec ces précédents travaux. En revanche, nous ne sommes pas parvenus à encapsuler le complexe de nature « ionique », en appliquant le même procédé. Comme précédemment, la réaction de polymérisation n'est pas influencée par la présence du complexe mais les latex dialysés se sont révélés non luminescents. La réticulation des particules de polymère ou l'utilisation de contre-ions polymérisables n'ont pas permis d'atteindre l'objectif souhaité. Il est donc probable que le complexe ait migré hors des gouttelettes de monomère avant même le début de la polymérisation. De plus l'échec de l'incorporation a été constaté pour les trois monomères, ce qui exclut l'hypothèse d'interactions défavorables entre le complexe et le polymère entraînant l'expulsion du complexe des particules. Le protocole utilisé semble également adapté puisqu'il a permis l'incorporation des complexes « non-ioniques ». La nature particulière de $\text{Eu}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$, est donc certainement à l'origine des résultats obtenus. Les contre-ions trioctylammonium assurent la neutralité du complexe et lui apportent sa solubilité dans le monomère. Toutefois, du fait de l'interface importante développée pendant l'émulsification, il est probable que le complexe interagisse avec l'eau. Si ces interactions ne semblent pas avoir d'influence pour l'incorporation de complexes « non-ioniques », le complexe $\text{Eu}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$, du fait de sa structure ionique pourrait être fortement affecté.

5 Etude de l'incorporation d'un organolanthanide « ionique »²

Au vue des précédents échecs quant à l'incorporation du complexe de nature « ionique », il semble que des interactions aux interfaces soient en causes. Pour vérifier cette hypothèse, l'influence de la nature des tensioactifs sur l'incorporation a été étudiée.

5.1 Influence de la nature du tensioactif

5.1.1 Polymérisations stabilisées par des tensioactifs cationiques et non -ioniques

Le bromure d'hexadécyltriméthylammonium (CTAB) et le lutensol AT-50 (LT-50) ont été utilisés respectivement en tant que tensioactifs cationiques et non-ioniques. Le MMA a été utilisé quant à lui comme monomère de référence. Le Tableau 30 résume les quantités mises en jeu pour chacun des tensioactifs étudiés.

Tableau 30 Formulations utilisées lors de la polymérisation en miniémulsion du MMA stabilisée par un tensioactif cationique (CTAB) ou non ionique (LT-50).

Composés	Masse (g)
CTAB/LT-50	0,075/0,15
Eau	50
MMA	10
ODA	0,4
Eu(pytz) ₃ (NHOct ₃) ₃	0,050
AIBA ^{a)} /KPS ^{b)}	0,1

^{a)} Amorceur utilisé avec le CTAB. ^{b)} Amorceur utilisé avec le LT-50.

Les mélanges ont été ensuite polymérisés suivant le protocole décrit dans la section 4.1. Le Tableau 31 résume les principales caractéristiques des particules de latex obtenues dans les deux cas.

Tableau 31 Influence de la nature du tensioactif (CTAB ou LT-50) sur les principales caractéristiques des latex de PMMA obtenus en présence du complexe ionique Eu(pytz)₃(NHOct₃)₃.

Tensioactif	Teneur en complexe ^{a)} (% poids)	Diamètre des gouttelettes initiales ^{b)} (nm)	Diamètre des particules finales ^{b)} (nm)	Indice de Polydispersité des particules finales ^{b)}	Np/Ng	Conversion (%)	Taux de solide (%)
CTAB	0	87	94	0,03	0,67	98,0	16,7
	0,5	102	122	0,01	0,47	99,9	17,5
LT-50	0	213	359	0,08	0,17	95,2	16,4
	0,5	230	448	0,06	0,11	90,0	15,0

^{a)} Calculé par rapport au monomère. ^{b)} Mesuré par DDL.

² Article « *Incorporation of Organolanthanides into Polymeric Nanoparticles by Miniemulsion Polymerization and Governing Parameters* » N. Wartenberg, O. Raccurt, D. Imbert, M. Mazzanti, E. Bourgeat-Lami. Soumis dans J. Mat. Chem. C.

Les courbes représentant l'évolution de la conversion et de la taille des particules en fonction du temps pour les deux séries de latex synthétisés (en présence et en l'absence de complexe) sont reportées ci-dessous.

➤ Tensioactif cationique : CTAB

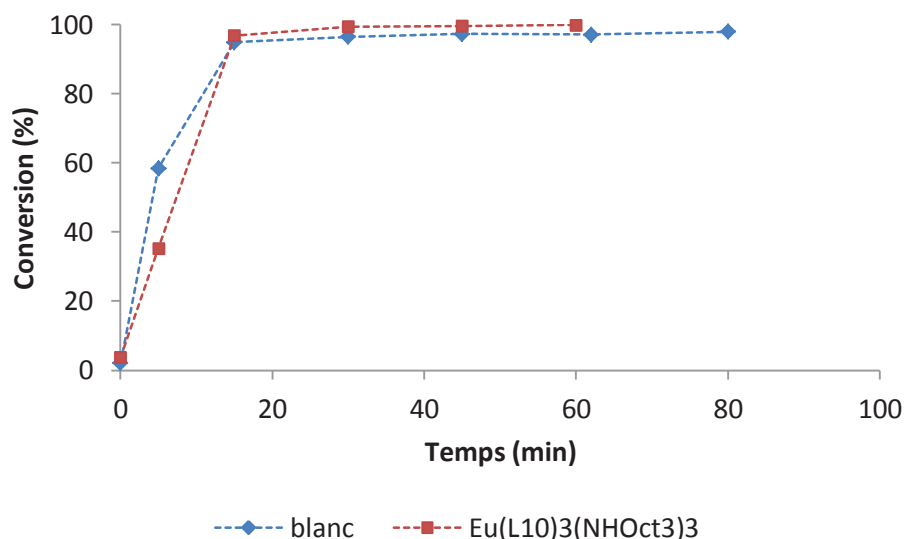


Figure 108 Evolution de la conversion en fonction du temps au cours de la polymérisation en miniémulsion du MMA stabilisée par le CTAB en l'absence et en présence du complexe $\text{Eu}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$

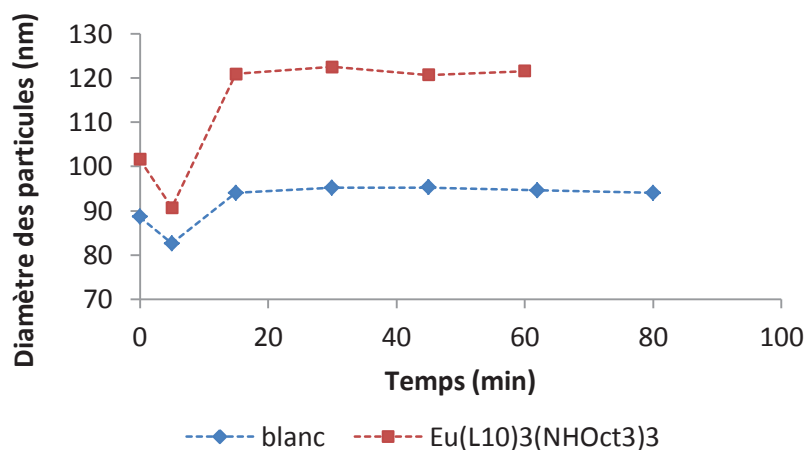


Figure 109 Evolution du diamètre des particules en fonction du temps au cours de la polymérisation en miniémulsion du MMA stabilisée par le CTAB en l'absence et en présence du complexe $\text{Eu}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$

La présence du complexe ne modifie pas la cinétique de polymérisation et on atteint dans les deux cas quasiment 100% de conversion en moins de 20 minutes (Figure 108). L'évolution globale de la taille des particules est similaire à celle observée quand la miniémulsion est stabilisée par le SDS (Figure 109). Cependant le phénomène de coalescence semble plus prononcé quand le complexe « ionique » est ajouté à la formulation comme indiqué par le rapport N_p/N_g (Tableau 31). La

coalescence ne devrait cependant pas avoir d'impact sur le mécanisme d'incorporation comme cela a déjà été souligné à plusieurs reprises.

➤ Tensioactif nonionique : LT-50

La cinétique de polymérisation est plus lente avec le Lutensol AT-50 par rapport au SDS ou au CTAB (Figure 110). Les gouttelettes générées après sonication sont en effet plus grosses car la stabilisation des gouttelettes par un tensioactif non-ionique est moins efficace que lorsqu'un tensioactif ionique est utilisé [90]. Une deuxième conséquence de cette stabilisation moins efficace est le phénomène de coalescence qui est beaucoup plus marqué dans ce cas. En effet le diamètre des gouttelettes de MMA double quasiment au cours de la polymérisation (Figure 111), on ne peut donc pas vraiment parler d'une polymérisation en miniémulsion pour ce système. Néanmoins le complexe n'a pas d'influence ni sur la cinétique, ni sur l'évolution de la taille des particules, comme cela avait été déjà observé pour le SDS et le CTAB.

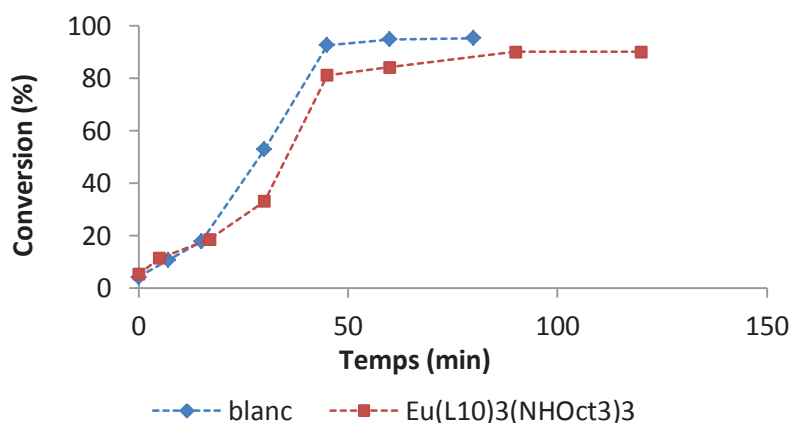


Figure 110 Evolution de la conversion en fonction du temps au cours de la polymérisation en miniémulsion du MMA stabilisée par le LT-50 en l'absence et en présence du complexe $\text{Eu}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$

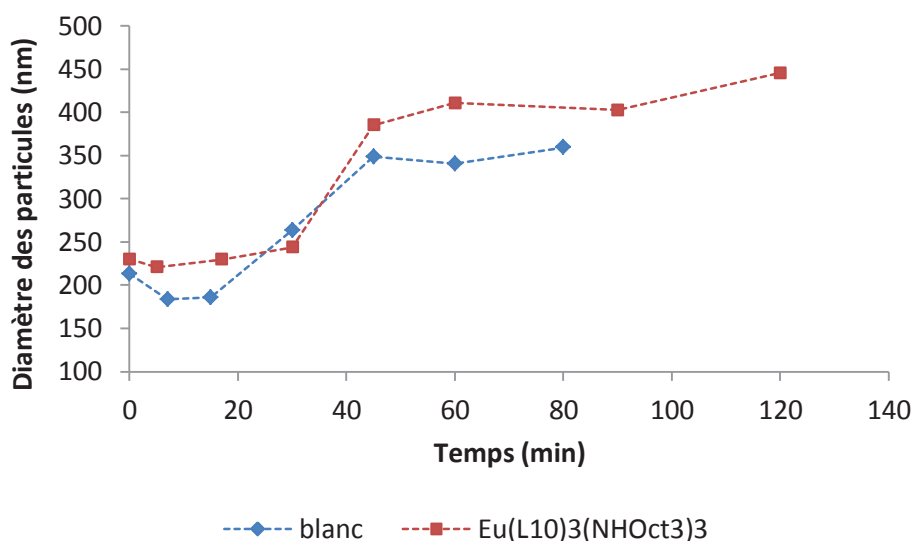


Figure 111 Evolution du diamètre des particules en fonction du temps au cours de la polymérisation en miniémulsion du MMA stabilisée par le LT-50 en l'absence et en présence du complexe $\text{Eu}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$

5.1.2 Propriétés de luminescence des particules de latex

Les latex de PMMA stabilisés par le CTAB ou le LT-50 ont été dialysés dans l'eau pendant 48 heures pour éliminer les complexes non incorporés. Les propriétés de luminescence de ces latex ont ensuite été enregistrées pour évaluer l'effet de la nature du tensioactif sur l'incorporation. Comme cela a été observé avec le SDS, aucun signal du complexe $\text{Eu}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$ n'a été détecté dans les particules de PMMA stabilisées par le LT-50 après dialyse. En revanche, les latex stabilisés par le CTAB sont luminescents comme en atteste le signal caractéristique du complexe d'euprium (Figure 112).

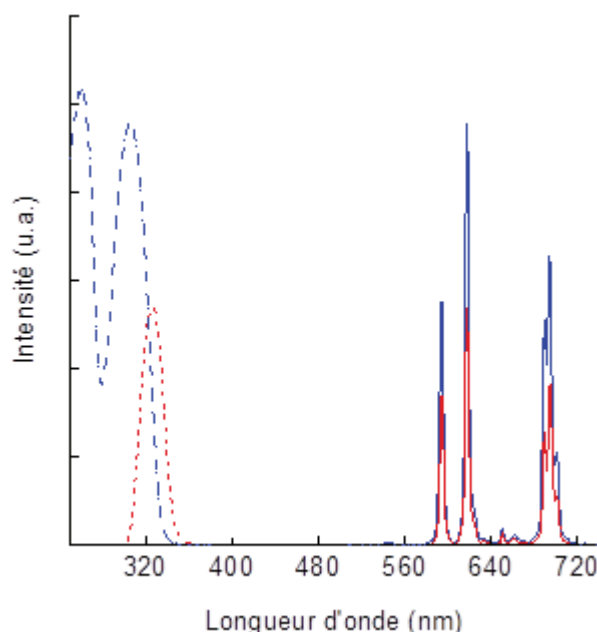


Figure 112 Spectres d'excitation (lignes pointillées) et d'émission (ligne continue) du latex de PMMA dialysé marqué par $\text{Eu}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$ (en bleu) et stabilisé par le CTAB. Les spectres d'excitation ont été enregistrés à 617 nm et les spectres d'émission ont été enregistrés à 306 nm pour le PMMA marqué. Les spectres d'émission et d'excitation de $\text{Eu}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$ dans le MMA sont rappelés en rouge.

En outre, le signal d'émission du complexe $\text{Eu}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$ n'est pas modifié par l'incorporation dans le latex de PMMA. En revanche, on observe un décalage du spectre d'excitation vers les plus hautes énergies par rapport au complexe dissout dans le monomère. Le fait que contrairement aux particules de latex stabilisées par le LT-50 ou le SDS, les latex stabilisés par le CTAB conservent leurs propriétés de luminescence après dialyse suggère que le tensioactif joue un rôle important dans le mécanisme d'encapsulation. Cette influence de la nature du tensioactif sur le mécanisme d'incorporation n'a, à notre connaissance, jamais été observé pour des complexes « non-ioniques ». Il semble donc que la structure chimique de l'organolanthanide soit également un facteur à prendre en compte, en plus de sa solubilité dans le monomère. La partie suivante est donc consacrée à l'étude de l'incorporation de $\text{Eu}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$ afin de mieux appréhender les mécanismes mis en jeu lors de la formation de la miniémulsion.

5.1.3 Evaluation du partage de l'euprium entre les phases aqueuses et organiques

Pour confirmer l'influence de la nature du tensioactif sur l'incorporation de manière plus précise, le partage de l'Eu(III) entre le monomère et la phase aqueuse avant le début de la polymérisation, a été mesuré pour les différentes configurations. Pour ce faire, la concentration en Eu(III) dans la phase aqueuse a été mesurée par ICPMS après que l'émulsion ait décantée. Ainsi cinq mélanges différents contenant le complexe ionique: $\text{Eu}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$ ont été préparés :

- Eau + $\text{Eu}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$
- Eau + MMA + $\text{Eu}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$
- Eau + tensioactif (CTAB, SDS ou LT-50) + MMA + $\text{Eu}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$

Dans chaque cas, les mêmes formulations que celles décrites précédemment ont été utilisées. Les mélanges ont été pré-émulsifiés sous vive agitation magnétique pendant 30 minutes comme lors de la préparation des miniémulsions. Cependant pour permettre aux systèmes de décanter assez rapidement, l'ODA a été retiré de toutes les formulations et les mélanges contenant un tensioactif n'ont pas été soumis aux ultrasons. Le Tableau 32 résume la composition et les conditions de préparation des différents mélanges. Après plusieurs semaines, les phases sont bien séparées et la partie inférieure (eau) est parfaitement limpide. Cette dernière a été analysée par ICPMS afin de déterminer la concentration en Eu(III). Ainsi, connaissant la concentration initiale de complexe, il est possible d'estimer la répartition de l'Eu(III) entre les différentes phases pour chaque cas (Tableau 32 et Figure 113).

Tableau 32 Tableau résumant la formulation des différents mélanges pour la mesure de partage de l'Eu(III) entre la phase aqueuse et le monomère.

Mélange	Eau	Eau + MMA	Eau + MMA+ SDS	Eau + MMA+ LT-50	Eau + MMA + CTAB
Eau (g)	12,57	13,84	12,51	12,50	12,50
MMA (g)	0	2,77	2,51	2,59	2,52
Tensio-actif (g/L) ^{a)}	/	/	3,0	1,5	3,0
$\text{Eu}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$ (mg)	5,1	5,5	5,1	5,1	4,9
Ultrasons	Oui	Oui	Non	Non	Non
Eu(III) introduit (μmol)	2,75	2,96	2,75	2,75	2,64
Eu(III) phase aqueuse ^{b)} (μmol)	0,39	2,15	1,84	1,96	0,58
Eu(III) phase aqueuse (% poids)	14,2	72,6	66,8	71,3	21,9

^{a)} Concentration de la phase aqueuse. ^{b)} Mesuré par analyse ICPMS.

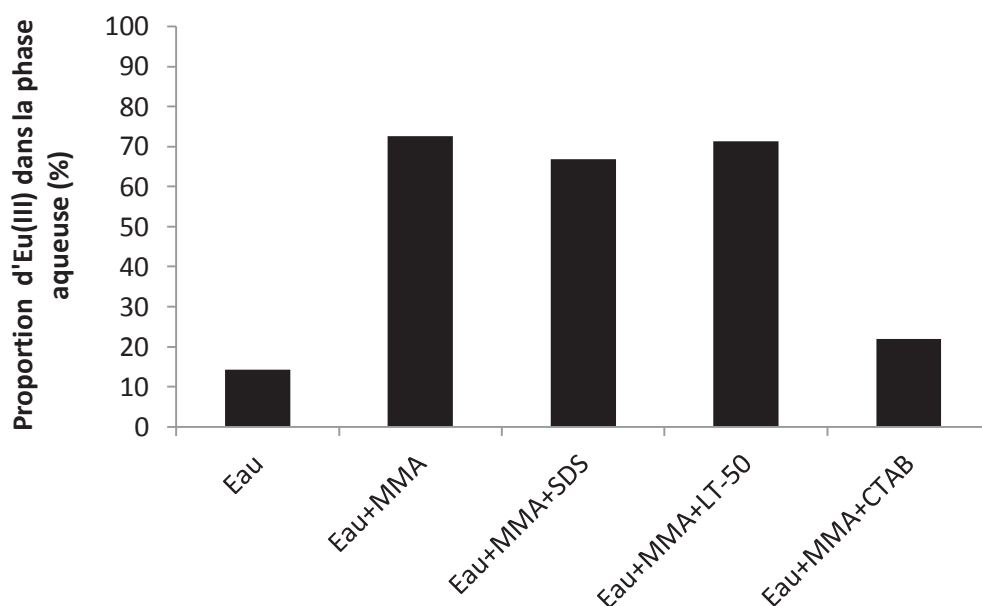


Figure 113 Pourcentage d'Eu(III) ayant migré dans la phase aqueuse lors de l'émulsification

Le SDS et le Lutensol AT-50 ne semblent avoir aucune influence sur le partage de l'Eu(III) entre les phases organiques et aqueuses. En effet le pourcentage d'Eu(III) ayant migré dans la phase aqueuse dans ces deux cas est similaire à celui mesuré en l'absence de tensioactif. Dans ces trois cas un important phénomène de migration vers la phase aqueuse est observé. Ce phénomène pourrait paraître surprenant quand on voit la quantité très faible d'Eu(III) trouvée quand le complexe est directement dissout dans l'eau. Ce dernier résultat confirme que la solubilité du complexe d'Eu(III) dans l'eau est très faible comme cela était attendu compte tenu de la présence des contre-ions trioctylammonium comme cela a été précédemment souligné. Les concentrations importantes d'Eu(III) observées dans la phase aqueuse sont donc vraisemblablement le résultat d'un mécanisme de dissociation du complexe du fait de sa nature ionique. En effet, quand le complexe, qui se présente sous la forme d'une huile visqueuse, est mis directement en contact avec l'eau, il reste sous la forme agrégée même après traitement aux ultrasons, ce qui le protège en quelque sorte de l'eau et empêche sa dissociation. En revanche, quand le complexe est préalablement dissout dans le MMA, il est sous forme moléculaire et peut donc interagir avec l'eau à l'interface et se dissocier. En effet, cette interaction avec l'eau entraîne la perte des ions trioctylammonium qui sont responsables de la solubilité du complexe dans le MMA. Le complexe résultant, chargé négativement, peut alors diffuser hors des gouttelettes de monomère et se retrouver dans la phase aqueuse où il sera progressivement dégradé, perdant ainsi ses propriétés de luminescence. En revanche l'utilisation du CTAB réduit grandement la quantité d'Eu(III) présente dans le sérum. Dans ce dernier cas, la quantité d'Eu(III) dans la phase aqueuse est du même ordre de grandeur que celle due à la solubilité du complexe dans l'eau. L'augmentation d'environ 7 % de la quantité d'Eu(III) est vraisemblablement due à la solubilité du MMA dans l'eau.

En effet, d'après les mesures précédentes, la solubilité du complexe dans l'eau est de $3,10 \cdot 10^{-5}$ M. Pour la solution eau/CTAB/MMA, sur les 2.64 μmol d'Eu introduites au total on a donc 0.39 μmol dans la phase aqueuse due à la solubilité du complexe dans l'eau. Les 2,25 μmol restantes sont donc solubilisées dans 2,52 g de MMA. La solubilité du MMA dans l'eau étant de 16 g/L (à 20°C), 0,18 μmol d'Eu sont présentes dans le sérum dû à la solubilité du MMA dans l'eau (0,2 g de MMA dissout dans

l'eau.) En considérant uniquement les solubilités du MMA et du complexe dans l'eau, on a donc 0,57 μmol d'Eu dans le sérum, ce qui représente 21,6 % par rapport à la quantité totale introduite. Pour les synthèses avec le CTAB il semble donc que la partie de l'Eu dans la phase aqueuse soit uniquement due à la solubilité dans l'eau du complexe et à celle du MMA dans l'eau.

Contrairement aux autres tensioactifs, le CTAB semble donc empêcher $\text{Eu}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$ de se dissocier aux interfaces. Une explication basée sur un effet de stabilisation induit par le tensioactif cationique a été proposée et est schématisée à la Figure 114.

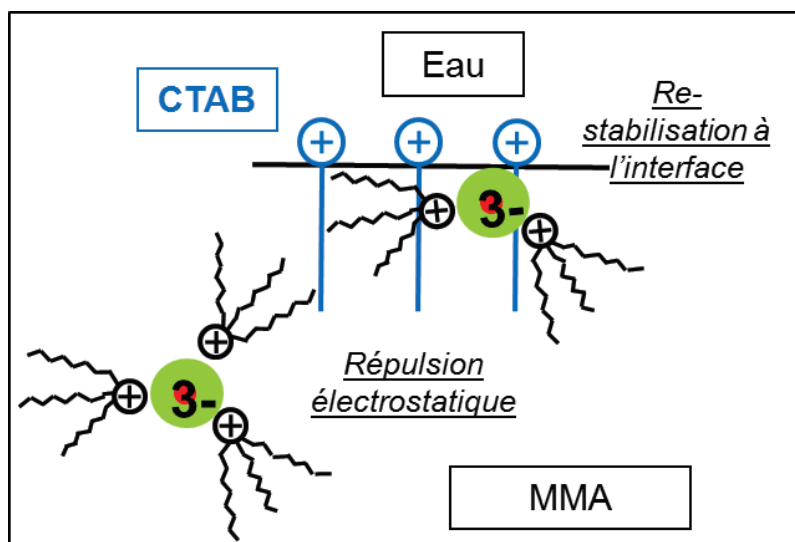


Figure 114 Schéma de principe des effets de stabilisation induits par le tensioactif cationique CTAB. Les charges négatives du complexe $(\text{Eu}(\text{pytz})_3)^{3-}$ (en vert les trois ligands et en rouge l'Eu(III)) sont compensées par trois contre-ions trioctylammonium (en noir)

Contrairement aux tensioactifs non-ioniques et anioniques, l'interface est dans ce cas chargée positivement du fait de la présence du CTAB. Dans ce cas, la diffusion des ions trioctylammonium à l'interface est empêchée, ou du moins limitée, par répulsion électrostatique avec le CTAB. Si une partie des ions trioctylammonium s'est néanmoins dissociée, le complexe résultant, chargé négativement, pourra être re-stabilisé par les charges positives du CTAB. Le tensioactif cationique stabilise donc ici les particules et le complexe.

L'incorporation d'un complexe « ionique » est influencée par la nature du tensioactif utilisé. Contrairement aux complexes de lanthanide de nature « non-ionique », la solubilité du complexe « ionique » dans le monomère ne semble plus être un paramètre suffisant pour garantir une incorporation efficace.

5.2 Caractérisation du système CTAB/PMMA/Eu(pytz)₃(NHOct₃)₃

5.2.1 Influence de la teneur en complexe

L'incorporation du complexe ionique Eu(pytz)₃(NHOct₃)₃ ayant finalement été réalisée avec succès, les propriétés de ce système ont été étudiées plus en détail. Dans un premier temps, nous avons estimé la quantité maximale de complexe qu'il est possible d'incorporer dans les particules. En effet comme cela a été exposé dans le chapitre bibliographique, faire varier l'intensité de luminescence de manière contrôlée (c'est à dire en faisant varier la quantité de complexes par bille) peut également être utilisé pour la création de codes optiques. L'influence de la concentration en complexe sur la polymérisation en miniémulsion du MMA stabilisée par le CTAB a ainsi été étudiée. La formulation utilisée est rappelée au Tableau 33 , seule la quantité de complexe introduite change.

Tableau 33 Formulations utilisées lors de la polymérisation en miniémulsion du MMA stabilisée par le CTAB en présence du complexe ionique Eu(pytz)₃(NHOct₃)₃

Composés	Masse (g)
CTAB	0,075
Eau	50
MMA	10
ODA	0,4
Eu(pytz) ₃ (NHOct ₃) ₃	0,030-0,2
AIBA	0,1

Les différentes formulations ont été polymérisées pendant une heure à 70 °C. Les principales caractéristiques des latex obtenus sont résumées dans le Tableau 34. Les cinétiques de polymérisation et les évolutions de taille des particules en fonction du temps sont présentées aux Figure 115 et Figure 116, respectivement.

Tableau 34 Principales caractéristiques des latex de PMMA obtenus en présence de CTAB et de quantités croissantes de $\text{Eu}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$.

Pourcentage massique de complexe ^{a)} (%)	Diamètre des gouttelettes initiales ^{b)} (nm)	Diamètre des particules finales ^{b)} (nm)	Indice de Polydispersité des particules finales ^{b)}	Np/Ng	Taux de solide (%)
0	89	95	0,01	0,66	16,6
0,3	102	122	0,01	0,47	17,5
0,5	119	136	0,05	0,54	17,0
0,8	106	131	0,01	0,42	17,4
1,0	140	144	0,02	0,74	17,5
1,6	167	174	0,01	0,71	17,7
2,0	223	376	0,44	0,17	17,5

^{a)} Calculé par rapport au MMA. ^{b)} Mesuré par DLS.

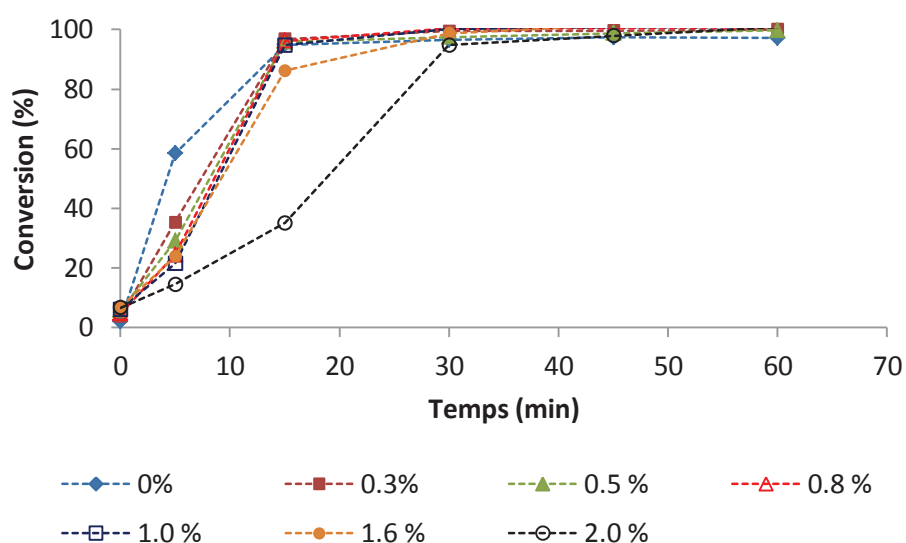


Figure 115 Evolution de la conversion en fonction du temps au cours de la polymérisation en miniémulsion du MMA stabilisée par le CTAB pour différentes concentrations initiales de complexe ionique

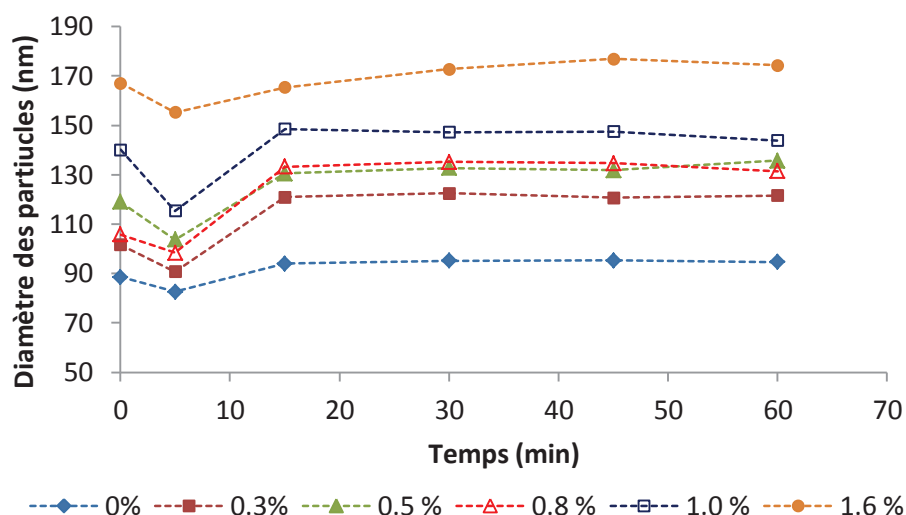


Figure 116 Evolution du diamètre des particules en fonction du temps au cours de la polymérisation en miniémulsion du MMA stabilisées par le CTAB pour différentes concentration initiales en $\text{Eu}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$.

Les courbes de conversion et d'évolution de la taille des particules en fonction du temps ont un profil similaire pour toutes les concentrations en complexe excepté pour la plus élevée (Figure 115 et Figure 116). La réaction est beaucoup plus lente dans ce cas. Ceci s'explique par l'augmentation importante de la taille initiale des gouttelettes de MMA ainsi que par l'augmentation de la taille des particules au cours de la polymérisation. En effet, la miniémulsion n'étant pas très stable initialement, le phénomène de coalescence est beaucoup plus marqué ($N_p/N_g = 0,17$) et le latex final est très visqueux. Il présente de plus un indice de polydispersité très important (0,44). La limite de dopage semble donc atteinte. En revanche pour les concentrations inférieures, la taille des gouttelettes augmente progressivement avec la quantité de $\text{Eu}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$ (Figure 117). En effet même si le diamètre de particules mesuré par DDL pour 0,8 % semble contredire cette observation, les autres valeurs confirment cette tendance générale. L'évolution chaotique de la taille du latex le plus chargé en complexe (Figure 118) au cours de la polymérisation confirme la déstabilisation.

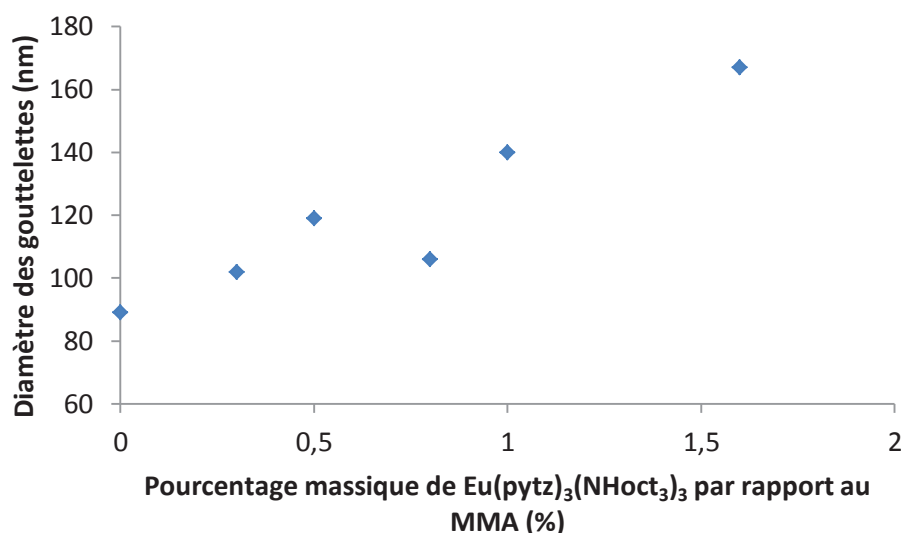


Figure 117 Evolution du diamètre des gouttelettes de MMA avant l'amorçage en fonction de la quantité de $\text{Eu}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$ introduite

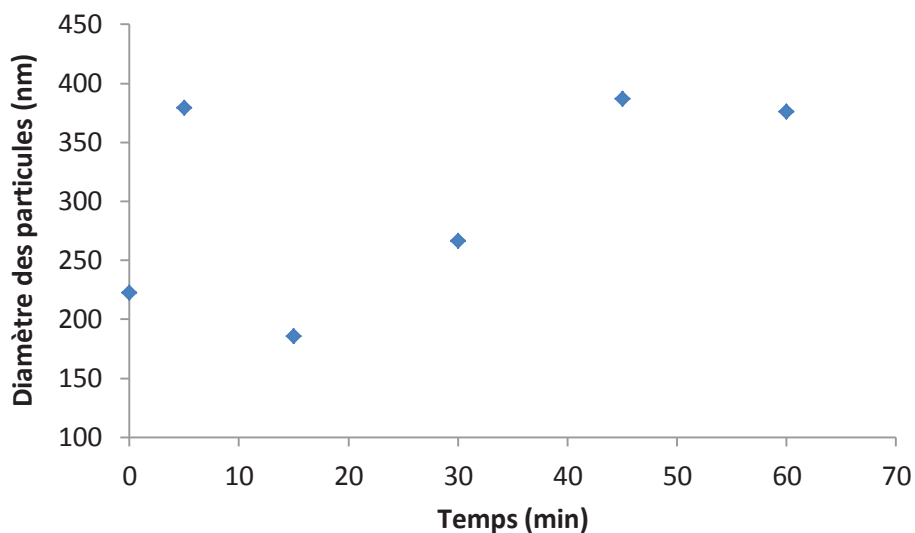


Figure 118 Evolution du diamètre des particules de latex en fonction du temps au cours de la polymérisation en miniémulsion du MMA effectuée en présence de 2 % massique de $\text{Eu}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$ par rapport au monomère

Le protocole utilisé jusqu'à maintenant avec le CTAB comme tensioactif permet donc d'ajouter jusqu'à 1,6 % de $\text{Eu}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$ par rapport au MMA (en masse) sans déstabiliser la suspension.

Afin de confirmer que la taille des particules de PMMA augmente à mesure que l'on ajoute du complexe, les latex ont été caractérisés par Microscopie Electronique en Transmission (MET). Cela permettra également de confirmer que les latex synthétisés sont bien monodisperses comme le suggèrent les analyses DDL.

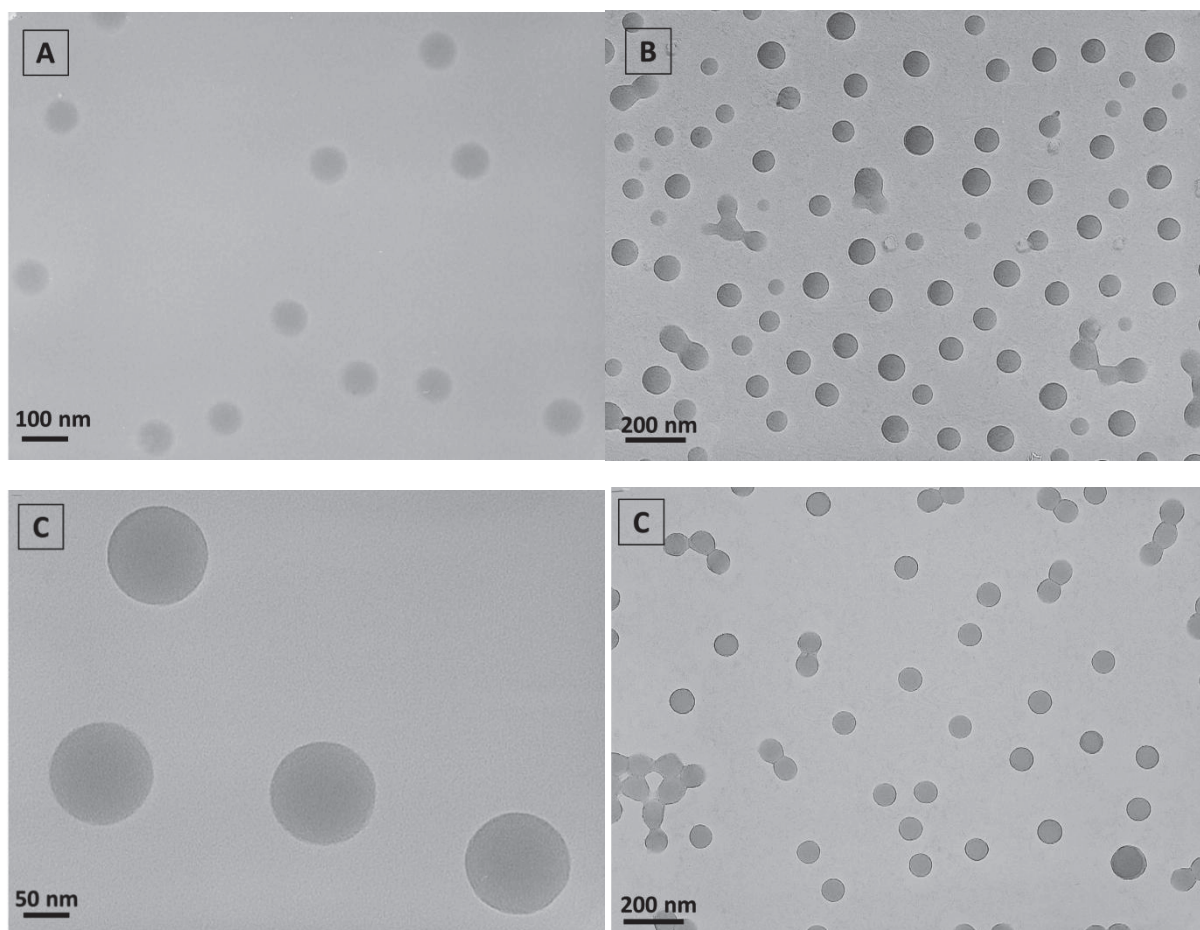


Figure 119 Clichés de microscopie électronique en transmission (JEOL 2000 FX, 200 kV) des particules de latex non chargées (A) et contenant 0,3 %^{a)} (B) et 1,6 %^{a)} (C) de complexe. ^{a)} Teneur massique par rapport au MMA.

A partir des clichés MET, nous avons pu déterminer des tailles moyennes de 76, 79 et 120 nm pour 0, 0,3 et 1,6 % de complexe, respectivement (Figure 119). Ces tailles sont plus faibles que celles mesurées par DDL. Cet écart de taille entre les mesures MET et DLS est très souvent observé dans la littérature et est attribué à la couche de solvation autour des particules [75]. De plus le PMMA est un polymère sensible aux électrons et se dépolymérise sous le faisceau, ce qui peut également expliquer l'écart observé entre les deux valeurs. Malgré cette différence de taille, les particules sont bien sphériques et monodisperses. La taille des particules augmente également avec la quantité de complexe introduit, même si l'effet est moins important que celui observé par DDL. La morphologie des particules ne semble pas influencée par la présence du complexe. Il est cependant difficile de comparer les clichés entre eux du fait de l'interaction entre le faisceau d'électron et les particules de PMMA qui peut varier d'un échantillon à l'autre.

La présence du complexe n'est pas visible sur les clichés, aucun point de contraste n'a été observé. Soit le complexe est réparti de manière homogène au sein des particules, soit la résolution du MET n'est pas suffisante. Les latex ont donc été caractérisés par MET haute résolution (Tecnai G2 S-TWIN, 200kV). Les images sont présentées sur la Figure 120.

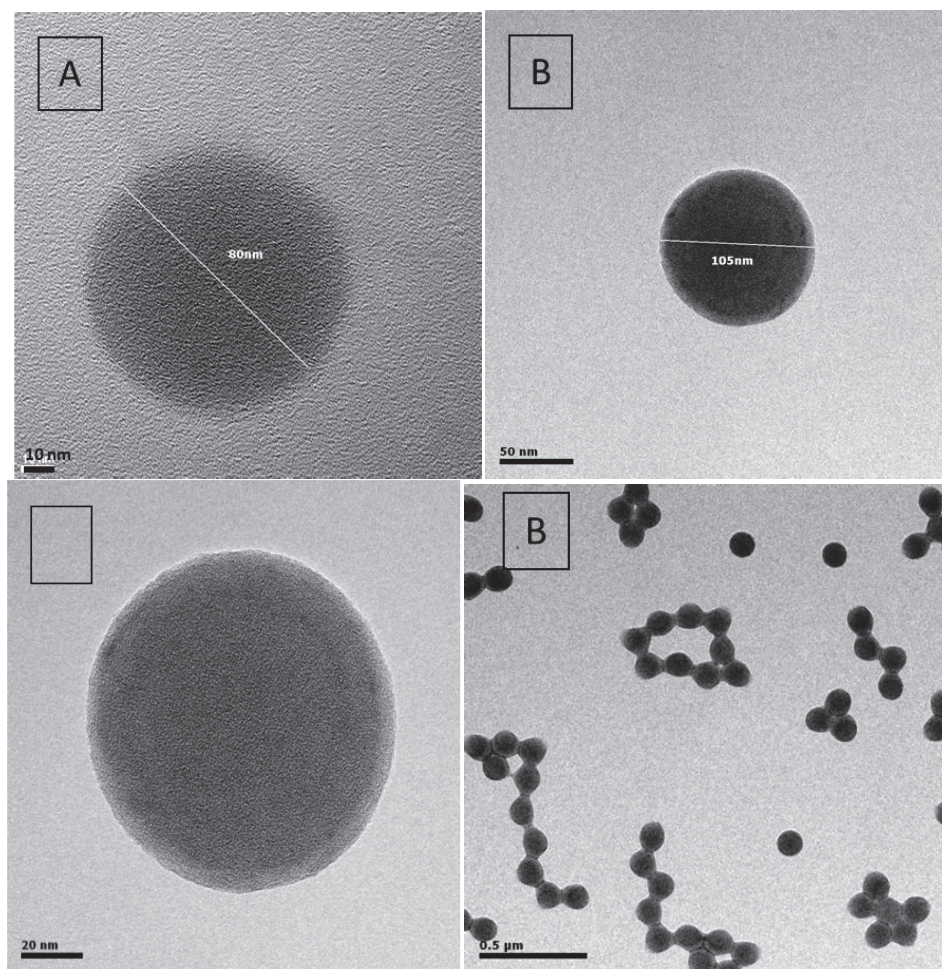


Figure 120 Clichés de microscopie électronique en transmission haute résolution (Tecnai G2 S-TWIN, 200kV) des particules de latex contenant (A) 0,3 % et (B) 1,6 % de complexe ^{a)}. ^{a)} pourcentage massique par rapport au MMA.

Sur les particules les plus chargées en $\text{Eu}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$ (1,6 %), on observe des petits points de contraste à fort grossissement. De plus il semble que le contour des particules contenant seulement 0,3 % de complexe soit moins bien défini que celui des particules contenant 1,6 % de complexe. Il est néanmoins difficile de conclure que $\text{Eu}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$ « rigidifie » les particules de PMMA. En effet cela peut simplement être dû à des temps d'exposition différents sous le faisceau d'électron. Seul une analyse MET à froid pourrait permettre de conclure sur ce point, ce qui n'a malheureusement pas pu être fait. Nous avons cependant utilisé un mode d'analyse permettant d'accentuer le contraste des atomes lourds comme les lanthanides: la microscopie électronique en transmission par balayage en champ sombre (STEM HAADF). Avec ce mode d'analyse, les atomes d'euprium devraient être plus visibles.

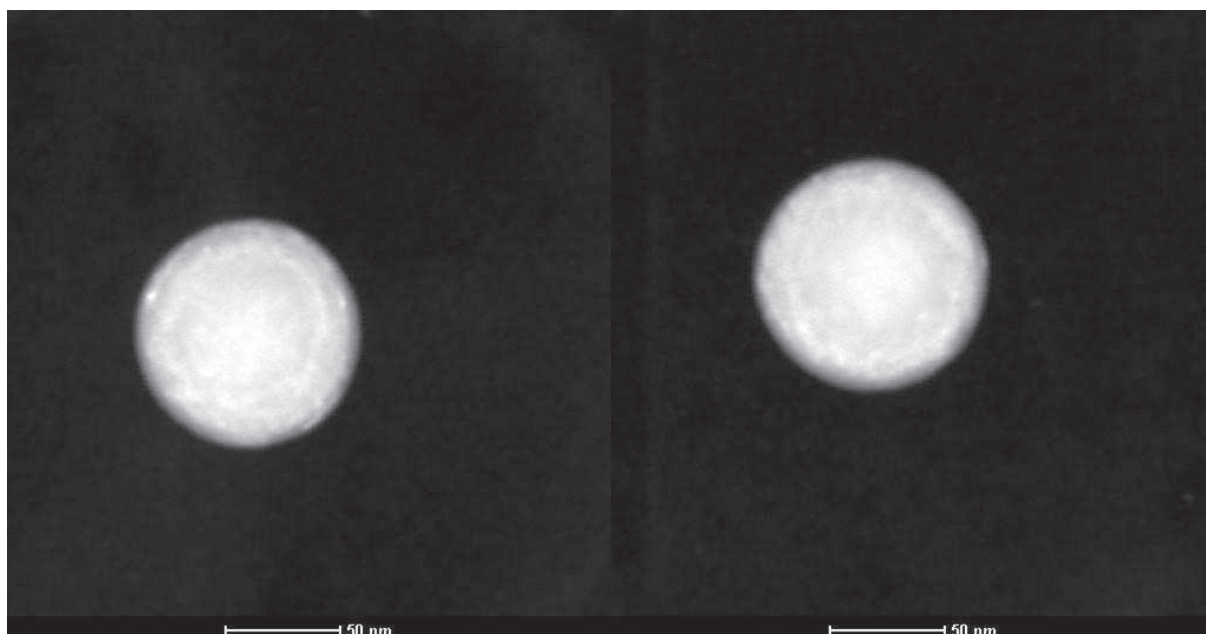


Figure 121 Clichés de microscopie électronique en transmission par balayage en champ sombre (STEM en mode HAADF, Tecnai G2 S-TWIN, 200kV) des particules de latex chargées à 1,6 % (en masse par rapport au MMA).

Ces nouvelles images n'apportent pas beaucoup plus d'information que les précédentes. Quelques points de contraste en blanc apparaissent comme cela avait été observé au MET en haute résolution. Les complexes semblent donc répartis de manière assez homogène au sein des particules. A fort taux de dopage, il y a peut-être un léger phénomène d'agrégation du complexe, d'où les points de contraste observés.

5.2.2 Mesure de l'efficacité d'incorporation des complexes de lanthanide

Pour chacun des latex décrits dans la section précédente, nous avons mesuré l'efficacité de l'incorporation. Elle est définie comme le rapport entre la quantité d'Eu(III) présente dans les particules après la polymérisation et celle introduite initialement. La quantité d'Eu(III) effectivement incorporée est calculée par différence à partir de la concentration d'Eu(III) dans le sérum (i.e. phase aqueuse sans particule). Pour la déterminer, les latex ont été filtrés par centrifugation au moyen de tubes Vivaspins (MWCO=5kD). Le filtrat récupéré, supposé être à la même concentration que le sérum, est analysé par ICPMS. Les résultats obtenus pour les différents teneurs en complexes sont résumés dans le Tableau 35. Le nombre de complexe par particule a également été estimé en supposant que l'incorporation est homogène.

Tableau 35 Quantification de l'incorporation du complexe ionique $\text{Eu}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$ dans les particules de latex de PMMA en fonction de la quantité introduite.

Teneur en complexe ^{a)} (% poids)	n(Eu) introduit (μmol)	n(Eu) dans le sérum ^{b)} (μmol)	Efficacité de l'incorporation (%)	Nombre de complexes/particule ^{c)}
0,3	14,98	2,14	85,7	841
0,5	28,73	3,59	87,5	2329
0,8	42,09	4,84	88,5	3115
1,0	59,07	7,30	87,6	5567
1,6	84,78	11,05	87,0	14321
2,0	113,12	16,48	85,4	- ^{d)}

^{a)} Calculé par rapport au MMA. ^{b)} Mesuré par ICPMS. ^{c)} Nombre de complexe calculé à partir de la taille des particules mesurée par DDL et du taux de solide. ^{d)} Non calculé du fait de la grande polydispersité du latex.

L'efficacité de l'incorporation est constante sur la gamme de concentration testée et égale à $87,0 \pm 1,6$ % (Figure 122). L'incorporation est donc assez efficace puisque sur la quantité introduite, seulement 13 % du complexe a été perdu. La proportion d'Eu(III) dans le sérum est légèrement inférieure à celle trouvée lors des mesures de partage où la quantité d'Eu(III) dans le sérum représentait 21,9%. L'absence d'agent hydrophobe lors des mesures de partage est très certainement à l'origine de cette différence. En effet, dans ce paragraphe la diffusion du MMA est limitée par la présence de l'ODA, ce qui conduit à une diminution de la concentration en Eu(III) dans la phase aqueuse.

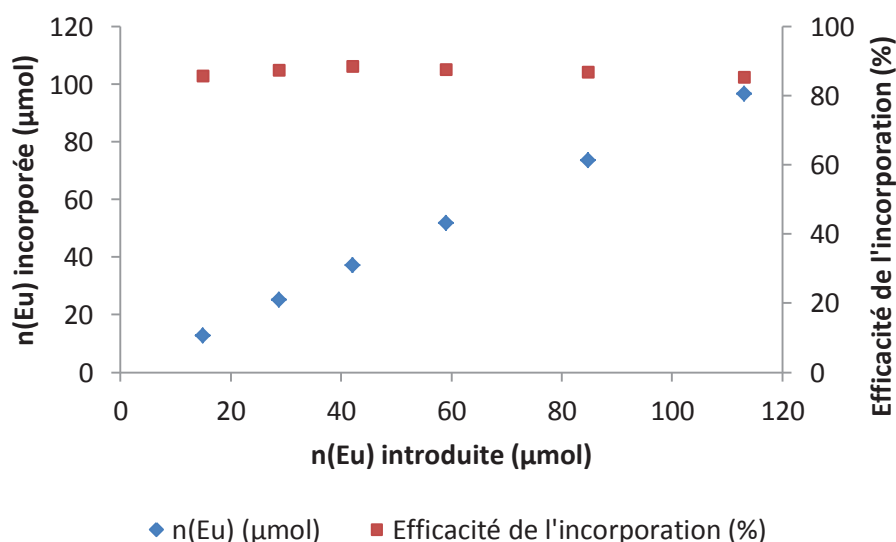


Figure 122 Evolution de l'efficacité de l'incorporation de $\text{Eu}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$ en fonction de la quantité de complexe initialement introduite.

5.2.3 Influence de la teneur en complexe sur les propriétés de luminescence des particules de latex

Il s'agit à présent de vérifier si l'augmentation du nombre de complexe par particule conduit effectivement à une augmentation de l'intensité de luminescence ou autrement dit qu'aucun phénomène de quenching ne se produit dans cette gamme de concentration. Ainsi pour vérifier s'il est possible de créer des signaux différenciables sur cette gamme de concentration, les latex ont été dialysés pendant 48 h dans l'eau et leurs propriétés de luminescence enregistrées. Les latex dialysés ont ensuite été dilués dans l'eau pour atteindre un taux de solide de 0,15 %. Les spectres d'émission et d'excitation pour les différentes concentrations en complexes sont présentés à la Figure 123. Les spectres ont été enregistrés dans les mêmes conditions: λ (excitation) = 306 nm et λ (émission) = 617 nm. Les intensités maximales pour chaque complexe (617 nm) ont été comparées et représentées en fonction de la quantité de complexe incorporée à la Figure 124.

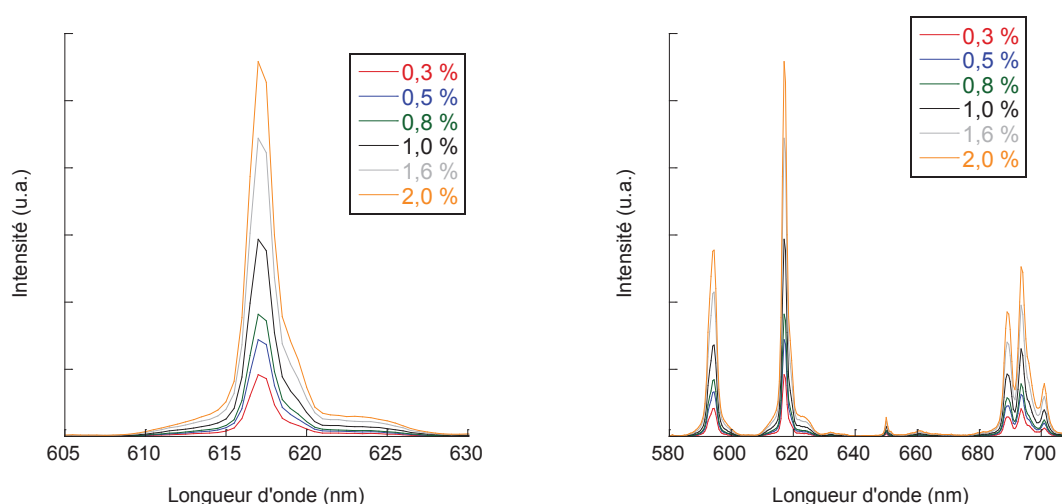


Figure 123 Spectre d'émission des latex (taux de solide = 0,15 %) marqués par $\text{Eu}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$ à différentes concentrations. λ (excitation) = 306 nm.

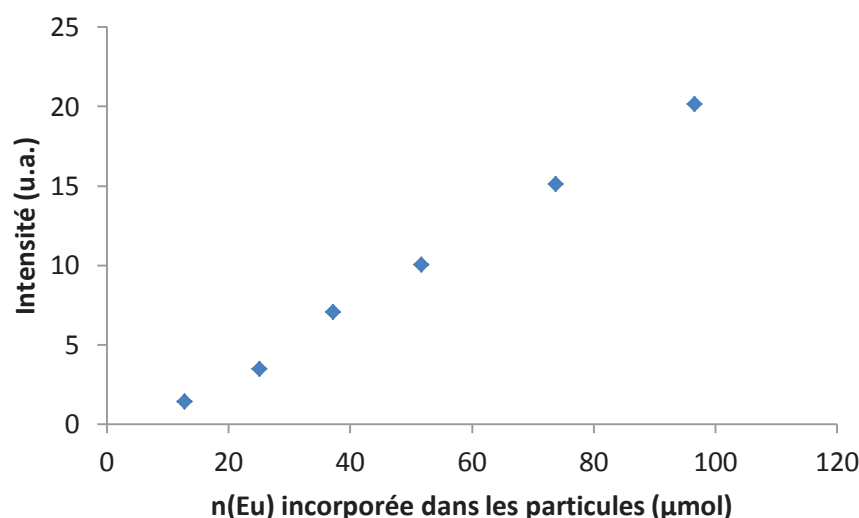


Figure 124 Evolution de l'intensité maximale à 617 nm des latex dialysés en fonction de la quantité d' $\text{Eu}(\text{III})$ incorporée.

Si aucun phénomène de quenching n'intervient, l'intensité doit augmenter linéairement avec la quantité de complexe. Dans notre cas l'évolution de l'intensité est bien linéaire, indiquant qu'il n'y a pas de quenching intra-particulaire. En revanche on peut noter que la droite ne passe pas par l'origine, ce qui provient sans doute de l'influence de la matrice polymère. Les temps de vie et les rendements quantiques ont également été mesurés dans chaque cas. Les résultats sont présentés dans le Tableau 36. Les rendements quantiques des latex ont été déterminés en prenant deux spectres de référence différents : celui de l'eau et celui du latex de PMMA non marqué.

Tableau 36 Résumé des temps de vie et des rendements quantiques des latex marqués avec des quantités croissantes en $\text{Eu}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$.

Teneur en complexe^{a)} (% poids)	Rendement quantique mesuré par rapport à l'eau (%)	Rendement quantique mesuré par rapport au PMMA (%)	Temps de vie à 617 nm (ms)
0,3	39	60	2,91
0,5	41	63	2,04
0,8	40	60	2,77
1,0	38	58	2,86
1,6	40	61	2,95

^{a)} Calculé par rapport au MMA

Les rendements quantiques sont constants sur toute la gamme de concentration testée. On peut noter l'importante absorption du PMMA comme en atteste les valeurs environ 20 % moins élevées dans le cas où l'eau est utilisée comme référence. De plus les temps de vie sont également constants (à l'exception du latex à 0,5 % en complexe dont la valeur est très légèrement plus faible). Le temps de vie du complexe $\text{Eu}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$ dans le méthanol étant de 2,33 ms, on peut considérer que l'incorporation n'a pas affecté l'intégrité du complexe.

5.2.4 Etude de la stabilité des particules de latex vis à vis du relargage des complexes

Un dernier point crucial reste à examiner. En effet comme cela a été détaillé en introduction, pour les incorporations de molécules sans liaison covalente à la particule, des phénomènes de « fuite » (i.e. relargage du complexe en dehors de la particule) peuvent se produire. Ce phénomène est particulièrement néfaste pour une éventuelle application [3, 79]. Ainsi, les latex non dialysés (et conservés à l'air ambiant sans précaution particulière) ont été filtrés par centrifugation deux semaines et deux mois après la polymérisation et la concentration en Eu(III) dans le sérum a été déterminée par ICPMS. Les résultats obtenus sont présentés à la Figure 125.

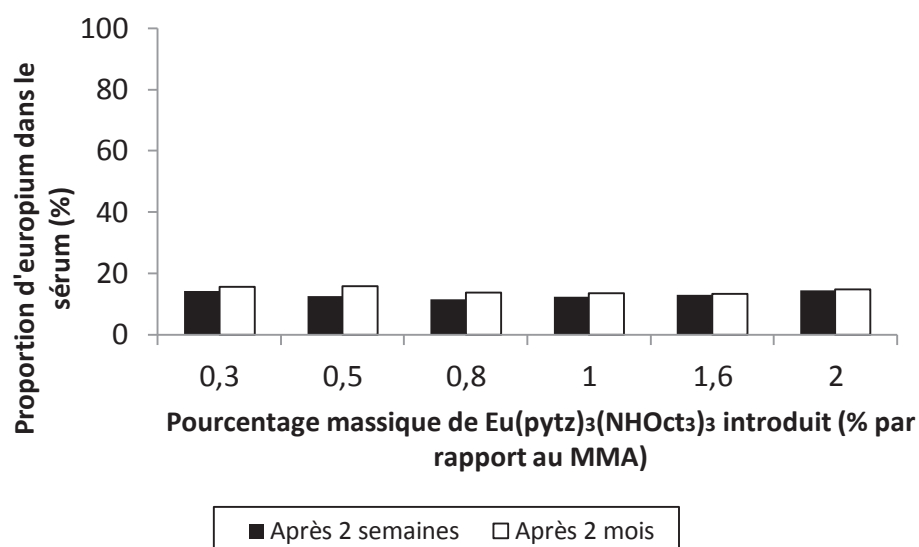


Figure 125 Pourcentage d'Eu(III) présent dans le sérum après deux semaines (noir) et deux mois (blanc) par rapport à la quantité introduite initialement.

La quantité d'Eu(III) dans le sérum ne semble pas évoluer de manière significative, même après deux mois. En effet la proportion d'Eu dans le sérum est de $13,0 \pm 1,5$ % après deux semaines et de $14,4 \pm 1,2$ % après deux mois de stockage. Afin de s'assurer que les complexes sont bien incorporés durablement dans les particules de latex et que la stabilité observée n'est pas due à un équilibre de concentration entre la phase aqueuse et les particules, les latex ont été dilués dans l'eau 10 fois et laissés sous agitation magnétique pendant une semaine. Si le partage des complexes entre l'eau et les particules est dû à un équilibre de type osmotique, le fait de déplacer cet état d'équilibre par dilution devrait entraîner un relargage supplémentaire. Les suspensions diluées ont ensuite été filtrées par centrifugation et la proportion d'Eu(III) dans le sérum a été calculée comme précédemment. Les résultats sont résumés dans le Tableau 37.

Tableau 37 Proportion d'Eu(III) dans le sérum des latex dilués dix fois dans l'eau.

Pourcentage massique de complexe introduit (%)	Proportion d'Eu(III) dans le sérum (%)
0,3	13,9
0,5	14,4
0,8	12,4
1	12,8
1,6	11,1
2	13,2

La proportion moyenne d'Eu(III) localisée dans la phase aqueuse dans ce cas est de $13,0 \pm 1,9$ %. Là encore cette valeur est similaire avec celles observées précédemment. Ceci indique que les complexes sont bien incorporés dans les particules de PMMA et qu'ils ne diffusent pas à l'extérieur au cours du temps. La perte de complexe (entre 13 et 15 % de la quantité introduite) intervient probablement lors de la formation des gouttelettes avant que le système soit parfaitement stabilisé par le CTAB.

Les temps de vie des différents sérums ont également été mesurés afin de confirmer la dissociation du complexe $\text{Eu}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$. La perte d'un ou plusieurs ligands par dissociation devrait se traduire par une chute du temps de vie. Les temps de vie enregistrés pour les différents sérums à 617 nm sont résumés dans le Tableau 38 :

Tableau 38 Temps de vie des différents sérums enregistrés à 617 nm

Sérum des latex aux différents taux de charge (%)	Temps de vie (ms)
0,3	0,222
0,5	0,263
0,8	0,252
1	0,257
1,6	0,256
2	0,243

Les temps de vie des sérums sont environ dix fois plus faibles que ceux observés pour le complexe dans le méthanol ou dans les billes de PMMA (Tableau 38). Ceci confirme la dégradation partielle du complexe en phase aqueuse par dissociation (remarque : la dissociation n'est pas immédiate et il faut attendre environ une semaine avant d'observer la chute du temps de vie).

6 Conclusion

Des latex de PABu, PMMA et PS ont été synthétisés par polymérisation radicalaire en miniémulsion. Contrairement à ce qui est prédit par la théorie de ce procédé de polymérisation en milieu hétérogène, nous avons observé dans chaque cas un léger phénomène de coalescence. Cependant l'objectif de cette thèse n'était pas de former des miniémulsions parfaites, mais d'obtenir des latex luminescents de taille et de composition contrôlés. Or le phénomène de coalescence n'est pas rédhibitoire pour l'obtention de telles particules. En effet ce phénomène n'affectera pas l'encapsulation et tout le complexe dissout dans le monomère sera effectivement présent dans chaque particule de latex après polymérisation. Le protocole choisi a ainsi permis d'obtenir de manière reproductible des latex monodisperses avec des conversions élevées permettant d'étudier l'incorporation de différents chélates de lanthanide. Dans un premier temps, des complexes possédant une structure « non-ionique », proche de celle des complexes habituellement reportés dans la littérature ont été étudiés. Il s'avère que, comme cela avait déjà été observé dans la littérature, l'incorporation d'un complexe « non-ionique » peut s'effectuer efficacement sans liaison covalente par simple dissolution dans le monomère. Si la polymérisation est menée à terme alors le complexe, initialement localisé dans les gouttelettes de monomère, est efficacement incorporé dans les particules de latex. Dans une deuxième partie, le même procédé a été utilisé pour encapsuler un organolanthanide de structure « ionique » dont l'incorporation dans des particules de latex par polymérisation en miniémulsion n'a encore jamais été décrite jusqu'ici. Dans ce cas il s'est avéré que la nature du tensioactif influençait grandement le mécanisme d'incorporation. En effet, du fait de sa nature « ionique » le complexe est bien plus sensible que les complexes « non-ioniques » aux interactions avec l'eau à l'interface des gouttelettes de monomère. Ainsi l'incorporation du complexe « ionique » $\text{Eu}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$ dans un latex de PMMA a pu être réalisée grâce à un phénomène de stabilisation électrostatique induit par le CTAB: un tensioactif cationique. En effet, l'utilisation de tensioactifs anioniques ou non-ioniques a mené à des latex non luminescents. Les latex de PMMA synthétisés avec le CTAB sont très stables vis-à-vis du relargage et les propriétés de luminescence du complexe d'Eu(III) sont conservées. L'intensité de luminescence peut être modulée sur une large gamme de concentrations et l'efficacité d'incorporation est élevée. La limite maximale de dopage a également été déterminée. En effet le latex devient instable lorsque la teneur massique en complexe introduit est supérieure à 2 % (par rapport au monomère). Des études supplémentaires sont nécessaires pour estimer s'il est possible ou non de repousser cette limite en ajustant la quantité de CTAB. De plus l'utilisation de ce système pour des applications en milieu biologique est difficile en l'état du fait de la cytotoxicité du CTAB. Là encore des travaux supplémentaires sont nécessaires afin de remplacer le CTAB par un autre stabilisant chargé positivement.

Le fait d'avoir pu incorporer avec succès un complexe de lanthanide de structure ionique au sein des particules de latex par polymérisation en miniémulsion ouvre la voie à l'utilisation d'une grande variété de complexes qui viennent s'ajouter à la liste déjà importante des complexes non ioniques étudiés jusqu'ici dans la littérature. Ceci permet d'avoir accès à des signaux lumineux toujours plus nombreux, ce qui est primordial pour la création de codes optiques complexes et originaux. De plus l'incorporation du complexe ionique $\text{Eu}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$ constitue un résultat particulièrement intéressant dans la mesure où le ligand utilisé permet d'exciter efficacement toutes les terres rares. Les latex dopés par ce complexe représentent donc une plate-forme particulièrement prometteuse

pour la création de codes optiques sous une excitation unique, comme cela sera développé au chapitre 4.

Bibliographie du chapitre 3

1. **Binnemans, K.**, Lanthanide-Based Luminescent Hybrid Materials. *Chemical Reviews*, **2009**. 109(9): p. 4283-4374.
2. **Kuriki, K., Y. Koike, and Y. Okamoto**, Plastic optical fiber lasers and amplifiers containing lanthanide complexes. *Chemical Reviews*, **2002**. 102(6): p. 2347-2356.
3. **Brambilla, D., J. Nicolas, B. Le Droumaguet, K. Andrieux, V. Marsaud, P.O. Couraud, and P. Couvreur**, Design of fluorescently tagged poly(alkyl cyanoacrylate) nanoparticles for human brain endothelial cell imaging. *Chemical Communications*, **2010**. 46(15): p. 2602-2604.
4. **Liu, H.G., S. Park, K. Jang, W.S. Zhang, H.J. Seo, and Y.I. Lee**, Different photoluminescent properties of binary and ternary europium chelates doped in PMMA. *Materials Chemistry and Physics*, **2003**. 82(1): p. 84-92.
5. **Liang, H., Z. Zheng, Z. Li, J. Xu, B. Chen, H. Zhao, Q. Zhang, and H. Ming**, Fabrication and amplified spontaneous emission of Eu(DBM) &sub3;Phen doped step-index polymer optical fiber. *Optical and Quantum Electronics*, **2004**. 36(15): p. 1313-1322.
6. **Lenaerts, P., K. Driesen, R. Van Deun, and K. Binnemans**, Covalent coupling of luminescent tris(2-thenoyltrifluoroacetato)lanthanide(III) complexes on a Merrifield resin. *Chemistry of Materials*, **2005**. 17(8): p. 2148-2154.
7. **Ueba, Y., E. Banks, and Y. Okamoto**, Investigation on the Synthesis and Characterization of Rare-Earth Metal-Containing Polymers .2. Fluorescence Properties of Eu-3(+)-Polymer Complexes Containing Beta-Diketone Ligand. *Journal of Applied Polymer Science*, **1980**. 25(9): p. 2007-2017.
8. **Wang, D.M., J.H. Zhang, Q. Lin, L.S. Fu, H.J. Zhang, and B. Yang**, Lanthanide complex/polymer composite optical resin with intense narrow band emission, high transparency and good mechanical performance. *Journal of Materials Chemistry*, **2003**. 13(9): p. 2279-2284.
9. **Blackley, D.C.**, Polymer Lattices 2nd Ed. **1997**.
10. **Caruso, F.**, Colloids and Colloid Assemblies. **2004**, Weinheim: Wiley-VCH.
11. **Urban, D. and K. Takamura**, Polymer Dispersions and their industrial applications. **2002**, Weinheim: Wiley-VCH.
12. **Daniel, J.C. and C. Pichot**, Les latex synthétiques. **2006**: Lavoisier.
13. **Liang, Y., A.I. Abdelrahman, V. Baranov, and M.A. Winnik**, The release and extraction of lanthanide ions from metal-encoded poly (styrene-co-methacrylic acid) microspheres. *Polymer*, **2012**. 53(4): p. 998-1004.
14. **Abderahman, A.I., S.C. Thickett, Y. Liang, O. Ornatsky, V. Baranov, and M.A. Winnik**, Surface Functionalization Methods To Enhance Bioconjugation in Metal-Labeled Polystyrene Particles. *Macromolecules*, **2011**. 44(12): p. 4801-4813.
15. **Liang, Y., A.I. Abdelrahman, V. Baranov, and M.A. Winnik**, The synthesis and characterization of lanthanide-encoded poly(styrene-co-methacrylic acid) microspheres. *Polymer*, **2011**. 52(22): p. 5040-5052.
16. **Abdelrahman, A.I., S. Dai, S.C. Thickett, O. Ornatsky, D. Bandura, V. Baranov, and M.A. Winnik**, Lanthanide-Containing Polymer Microspheres by Multiple-Stage Dispersion Polymerization for Highly Multiplexed Bioassays (vol 131, pg 15276, 2009). *Journal of the American Chemical Society*, **2010**. 132(7): p. 2465-2465.
17. **Abdelrahman, A.I., O. Ornatsky, D. Bandura, V. Baranov, R. Kinach, S. Dai, S.C. Thickett, S. Tanner, and M.A. Winnik**, Metal-containing polystyrene beads as standards for mass cytometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, **2010**. 25(3): p. 260-268.
18. **Abdelrahman, A.I., S. Dai, S.C. Thickett, O. Ornatsky, D. Bandura, V. Baranov, and M.A. Winnik**, Lanthanide-Containing Polymer Microspheres by Multiple-Stage Dispersion

- Polymerization for Highly Multiplexed Bioassays. *Journal of the American Chemical Society*, **2009**. 131(42): p. 15276-15283.
19. **Gao, H.F., Y.Q. Zhao, S.K. Fu, B. Li, and M.Q. Li**, Preparation of a novel polymeric fluorescent nanoparticle. *Colloid and Polymer Science*, **2002**. 280(7): p. 653-660.
 20. **Renard, B.**, Elaboration de Capsules Imperméables et Ignifugeantes pour les Tissus Techniques. *Thèse de l'Université Claude Bernard Lyon 1*, **2002**.
 21. **Matsuya, T., S. Tashiro, N. Hoshino, N. Shibata, Y. Nagasaki, and K. Kataoka**, A core-shell-type fluorescent nanosphere possessing reactive poly(ethylene glycol) tethered chains on the surface for zeptomole detection of protein in time-resolved fluorometric immunoassay. *Analytical Chemistry*, **2003**. 75(22): p. 6124-6132.
 22. **Simon, Y.C., S. Bai, M.K. Sing, H. Dietsch, M. Achermann, and C. Weder**, Low-Power Upconversion in Dye-Doped Polymer Nanoparticles. *Macromolecular Rapid Communications*, **2012**. 33(6-7): p. 498-502.
 23. **Tronc, F., M. Li, J.P. Lu, M.A. Winnik, B.L. Kaul, and J.C. Graciet**, Fluorescent polymer particles by emulsion and miniemulsion polymerization. *Journal of Polymer Science Part A-Polymer Chemistry*, **2003**. 41(6): p. 766-778.
 24. **Holzappel V, M. A., L. K., L.M. R., and a.M. V.**, Preparation of fluorescent carboxyl and amino functionalized polystyrene particles by miniemulsion polymerization as markers for cells. *Macromol. Chem. Phys.*, **2005**. 206(24): p. 2440.
 25. **Harkins, W.D.**, A General Theory of the Reaction Loci in Emulsion Polymerization. *Journal of Chemical Physics*, **1945**. 13(9): p. 381-382.
 26. **Harkins, W.D.**, A General Theory of the Reaction Loci in Emulsion Polymerization .2. *Journal of Chemical Physics*, **1946**. 14(1): p. 47-48.
 27. **Harkins, W.D.**, A General Theory of the Mechanism of Emulsion Polymerization. *Journal of the American Chemical Society*, **1947**. 69(6): p. 1428-&.
 28. **Smith, W.V. and R.H. Ewart**, Kinetics of Emulsion Polymerization. *Journal of Chemical Physics*, **1948**. 16(6): p. 592-599.
 29. **Mellon, V.**, Synthesis and Characterization of Waterbone Polymer/Laponite Nanocomposite Latexes Through Miniemulsion Polymerization. *Thèse de l'Université Claude Bernard, Lyon 1*, **2009**.
 30. **Song, Z. and G.W. Poehlein**, Particle Formation in Emulsion Polymerization - Particle Number at Steady-State. *Journal of Macromolecular Science-Chemistry*, **1988**. A25(12): p. 1587-1632.
 31. **Song, Z.G. and G.W. Poehlein**, Particle Formation in Emulsion Polymerization - Transient Particle Concentration. *Journal of Macromolecular Science-Chemistry*, **1988**. A25(4): p. 403-443.
 32. **Hasegawa, J. Polym. Sci. A : Polym. Chem.**, **1987**. 25: p. 3231-3239.
 33. **Hasegawa, J. Polym. Sci. A : Polym. Chem.**, **1987**. 25: p. 3117-3125.
 34. **Quaroni, L. and G. Chumanov**, Preparation of Polymer-Coated Functionalized Silver Nanoparticles. *Journal of the American Chemical Society*, **1999**. 121(45): p. 10642-10643.
 35. **Fu, S.H., C.S. Du, M.J. Zhang, A.L. Tian, and X. Zhang**, Preparation and properties of polymer-encapsulated phthalocyanine blue pigment via emulsion polymerization. *Progress in Organic Coatings*, **2012**. 73(2-3): p. 149-154.
 36. **Solc Jitka**, *EP 0209879*, **1986**.
 37. **Huhtinen, P., M. Kivela, O. Kuronen, V. Hagren, H. Takalo, H. Tenhu, T. Lovgren, and H. Harma**, Synthesis, characterization, and application of Eu(III), Tb(III), Sm(III), and Dy(III) lanthanide chelate nanoparticle labels. *Analytical Chemistry*, **2005**. 77(8): p. 2643-2648.
 38. **Thomas, S.W., III, G.D. Joly, and T.M. Swager**, Chemical sensors based on amplifying fluorescent conjugated polymers. *Chemical Reviews*, **2007**. 107(4): p. 1339-1386.
 39. **McQuade, D.T., A.E. Pullen, and T.M. Swager**, Conjugated polymer-based chemical sensors. *Chemical Reviews*, **2000**. 100(7): p. 2537-2574.

40. **Kim, S., C.-K. Lim, J. Na, Y.-D. Lee, K. Kim, K. Choi, J.F. Leary, and I.C. Kwon**, Conjugated polymer nanoparticles for biomedical in vivo imaging. *Chemical Communications*, **2010**. 46(10): p. 1617-1619.
41. **Pecher, J. and S. Mecking**, Nanoparticles of Conjugated Polymers. *Chemical Reviews*, **2010**. 110(10): p. 6260-6279.
42. **Asua, J.M.**, Miniemulsion polymerization. *Progress in Polymer Science*, **2002**. 27(7): p. 1283-1346.
43. **Landfester, K., R. Montenegro, U. Scherf, R. Guntner, U. Asawapirom, S. Patil, D. Neher, and T. Kietzke**, Semiconducting polymer nanospheres in aqueous dispersion prepared by a miniemulsion process. *Advanced Materials*, **2002**. 14(9): p. 651-655.
44. **Landfester, K.**, The Generation of Nanoparticles in Miniemulsions. *Advanced Materials*, **2001**. 13(10): p. 765-768.
45. **Antonietti, M. and K. Landfester**, Polyreactions in miniemulsions. *Progress in Polymer Science*, **2002**. 27(4): p. 689-757.
46. **Chou, Y.J., M.S. Elaissar, and J.W. Vanderhoff**, Mechanism of Emulsification of Styrene Using Hexadecyltrimethylammonium Bromide-Cetyl Alcohol Mixtures. *Journal of Dispersion Science and Technology*, **1980**. 1(2): p. 129-150.
47. **Schork, F.J., G.W. Poehlein, S. Wang, J. Reimers, J. Rodrigues, and C. Samer**, Miniemulsion polymerization. *Colloids and Surfaces a-Physicochemical and Engineering Aspects*, **1999**. 153(1-3): p. 39-45.
48. **Landfester, K., N. Bechthold, S. Forster, and M. Antonietti**, Evidence for the preservation of the particle identity in miniemulsion polymerization. *Macromolecular Rapid Communications*, **1999**. 20(2): p. 81-84.
49. **Samer, C.J. and F.J. Schork**, Miniemulsion copolymerization in batch and continuous reactors. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, **1999**. 38(5): p. 1792-1800.
50. **Ugelstad, J.**, *J. Polym. Sci. Lett. Ed*, **1973**. 11: p. 503.
51. **Antonietti, M., E. Wenz, L. Bronstein, and M. Seregina**, Synthesis and characterization of noble metal colloids in block copolymer micelles. *Advanced Materials*, **1995**. 7(12): p. 1000-&.
52. **Chern, C.S. and T.J. Chen**, Effect of Ostwald ripening on styrene miniemulsion stabilized by reactive cosurfactants. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, **1998**. 138(1): p. 65-74.
53. **Bechthold, N., F. Tiarks, M. Willert, K. Landfester, and M. Antonietti**, Miniemulsion polymerization: Applications and new materials. *Macromolecular Symposia*, **2000**. 151: p. 549-555.
54. **Landfester, K.**, Polyreactions in miniemulsions. *Macromolecular Rapid Communications*, **2001**. 22(12): p. 896-936.
55. **Higuchi, W.I. and J. Misra**, Physical Degradation of Emulsions Via Molecular Diffusion Route and Possible Prevention Thereof. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **1962**. 51(5): p. 459-&.
56. **Chern, C.S., T.J. Chen, and Y.C. Liou**, Miniemulsion polymerization of styrene in the presence of a water-insoluble blue dye. *Polymer*, **1998**. 39(16): p. 3767-3777.
57. **Alduncin, J.A. and J.M. Asua**, Molecular-Weight Distributions in the Miniemulsion Polymerization of Styrene Initiated by Oil-Soluble Initiators. **1994**. 35(17): p. 3765.
58. **Erdem, B., E.D. Sudol, V.L. Dimonie, and M.S. El-Aasser**, Encapsulation of inorganic particles via miniemulsion polymerization. I. Dispersion of titanium dioxide particles in organic media using OLOA 370 as stabilizer. *Journal of Polymer Science Part a-Polymer Chemistry*, **2000**. 38(24): p. 4419-4430.
59. **Erdem, B., E.D. Sudol, V.L. Dimonie, and M.S. El-Aasser**, Encapsulation of inorganic particles via miniemulsion polymerization. II. Preparation and characterization of styrene miniemulsion droplets containing TiO₂ particles. *Journal of Polymer Science Part a-Polymer Chemistry*, **2000**. 38(24): p. 4431-4440.

60. **Erdem, B., E.D. Sudol, V.L. Dimonie, and M.S. El-Aasser**, Encapsulation of inorganic particles via miniemulsion polymerization. III. Characterization of encapsulation. *Journal of Polymer Science Part a-Polymer Chemistry*, **2000**. 38(24): p. 4441-4450.
61. **Tiarks, F., K. Landfester, and M. Antonietti**, Encapsulation of carbon black by miniemulsion polymerization. *Macromolecular Chemistry and Physics*, **2001**. 202(1): p. 51-60.
62. **Torza, S. and S.G. Mason**, Three-phase interactions in shear and electrical fields. *Journal of Colloid and Interface Science*, **1970**. 33(1): p. 67-83.
63. **Berg, J., D. Sundberg, and B. Kronberg**, Microencapsulation of Emulsified Oil Droplets by Insitu Vinyl Polymerization. *Journal of Microencapsulation*, **1989**. 6(3): p. 327-337.
64. **Chen, Y.C., V. Dimonie, and M.S. El-Aasser**, Interfacial Phenomena Controlling Particle Morphology of Composite Latexes. *Journal of Applied Polymer Science*, **1991**. 42(4): p. 1049-1063.
65. **Tiarks, F., K. Landfester, and M. Antonietti**, Preparation of Polymeric Nanocapsules by Miniemulsion Polymerization. *Langmuir*, **2001**. 17(3): p. 908-918.
66. **Chen, J.A., P.S. Zhang, G. Fang, P.G. Yi, X.Y. Yu, X.F. Li, F. Zeng, and S.Z. Wu**, Synthesis and Characterization of Novel Reversible Photoswitchable Fluorescent Polymeric Nanoparticles via One-Step Miniemulsion Polymerization. *Journal of Physical Chemistry B*, **2011**. 115(13): p. 3354-3362.
67. **Baier, M.C., J. Huber, and S. Mecking**, Fluorescent Conjugated Polymer Nanoparticles by Polymerization in Miniemulsion. *Journal of the American Chemical Society*, **2009**. 131(40): p. 14267-14273.
68. **Ego, C., D. Marsitzky, S. Becker, J.Y. Zhang, A.C. Grimsdale, K. Mullen, J.D. MacKenzie, C. Silva, and R.H. Friend**, Attaching perylene dyes to polyfluorene: Three simple, efficient methods for facile color tuning of light-emitting polymers. *Journal of the American Chemical Society*, **2003**. 125(2): p. 437-443.
69. **Virgili, T., D.G. Lidzey, and D.D.C. Bradley**, Efficient energy transfer from blue to red in tetraphenylporphyrin-doped poly(9,9-dioctylfluorene) light-emitting diodes. *Advanced Materials*, **2000**. 12(1): p. 58.
70. **Lorenz, S., C.P. Hauser, B. Autenrieth, C.K. Weiss, K. Landfester, and V. Mailänder**, The Softer and More Hydrophobic the Better: Influence of the Side Chain of Polymethacrylate Nanoparticles for Cellular Uptake. *Macromolecular Bioscience*, **2010**. 10(9): p. 1034-1042.
71. **Lorenz, M.R. and et al.**, Uptake of functionalized, fluorescent-labeled polymeric particles in different cell lines and stem cells. **2006**. 27(14): p. 2820.
72. **Hoherl, A., M. Dass, K. Landfester, V. Mailänder, and A. Musyanovych**, Competitive Cellular Uptake of Nanoparticles Made From Polystyrene, Poly(methyl methacrylate), and Polylactide. *Macromolecular Bioscience*, **2012**. 12(4): p. 454-464.
73. **Ando, K. and H. Kawaguchi**, High-performance fluorescent particles prepared via miniemulsion polymerization. *Journal of Colloid and Interface Science*, **2005**. 285(2): p. 619-626.
74. **Vancaeyzeele, C., O. Ornatsky, V. Baranov, L. Shen, A. Abdelrahman, and M.A. Winnik**, Lanthanide-containing polymer nanoparticles for biological tagging applications: Nonspecific endocytosis and cell adhesion. *Journal of the American Chemical Society*, **2007**. 129: p. 13653-13660.
75. **Desbiens, J., B. Bergeron, M. Patry, and A.M. Ritcey**, Polystyrene nanoparticles doped with a luminescent europium complex. *Journal of Colloid and Interface Science*, **2012**. 376(1): p. 12-19.
76. **Ramírez, L.P., M. Antonietti, and K. Landfester**, Formation of Novel Layered Nanostructures from Lanthanide-Complexes by Secondary Interactions with Ligating Monomers in Miniemulsion Droplets. *Macromolecular Chemistry and Physics*, **2006**. 207(2): p. 160-165.
77. **Jagielski, N., S. Sharma, V. Hombach, V. Mailänder, V. Rasche, and K. Landfester**, Nanocapsules Synthesized by Miniemulsion Technique for Application as New Contrast Agent Materials. *Macromolecular Chemistry and Physics*, **2007**. 208(19-20): p. 2229-2241.

78. **Zhao, X.A., S.X. Zhou, M. Chen, L.M. Wu, and G.X. Gu**, Encapsulation of Hydrophilic Dyes with Polystyrene Using Double Miniemulsion Technique. *Journal of Applied Polymer Science*, **2011**. 119(6): p. 3615-3622.
79. **Xu, P., E. Gullotti, L. Tong, C.B. Highley, D.R. Errabelli, T. Hasan, J.-X. Cheng, D.S. Kohane, and Y. Yeo**, Intracellular Drug Delivery by Poly(lactic-co-glycolic acid) Nanoparticles, Revisited. *Molecular Pharmaceutics*, **2008**. 6(1): p. 190-201.
80. **Taylor, J.R., M.M. Fang, and S.M. Nie**, Probing specific sequences on single DNA molecules with bioconjugated fluorescent nanoparticles. *Analytical Chemistry*, **2000**. 72(9): p. 1979-1986.
81. **Harma, H., T. Soukka, and T. Lovgren**, Europium nanoparticles and time-resolved fluorescence for ultrasensitive detection of prostate-specific antigen. *Clinical Chemistry*, **2001**. 47(3): p. 561-568.
82. **Geissler, D., L.J. Charbonniere, R.F. Ziesel, N.G. Butlin, H.-G. Loehmannsroeben, and N. Hildebrandt**, Quantum Dot Biosensors for Ultrasensitive Multiplexed Diagnostics. *Angewandte Chemie-International Edition*, **2010**. 49(8): p. 1396-1401.
83. **Herz, E., A. Burns, D. Bonner, and U. Wiesner**, Large Stokes-Shift Fluorescent Silica Nanoparticles with Enhanced Emission Over Free Dye for Single Excitation Multiplexing. *Macromolecular Rapid Communications*, **2009**. 30(22): p. 1907-1910.
84. **Kurner, J.M., I. Klimant, C. Krause, E. Pringsheim, and O.S. Wolfbeis**, A new type of phosphorescent nanospheres for use in advanced time-resolved multiplexed bioassays. *Analytical Biochemistry*, **2001**. 297(1): p. 32-41.
85. **Robert, W., R.C. Andrew, and G.S. David**, Encoded Microcarriers For High-Throughput Multiplexed Detection. *Angewandte Chemie International Edition*, **2006**. 45(37): p. 6104-6117.
86. **Han, M.Y., X.H. Gao, J.Z. Su, and S. Nie**, Quantum-dot-tagged microbeads for multiplexed optical coding of biomolecules. *Nature Biotechnology*, **2001**. 19(7): p. 631-635.
87. **Bellisario, R., R.J. Colinas, and K.A. Pass**, Simultaneous measurement of thyroxine and thyrotropin from newborn dried blood-spot specimens using a multiplexed fluorescent microsphere immunoassay. *Clinical Chemistry*, **2000**. 46(9): p. 1422-1424.
88. **Kellar, K.L. and J.P. Douglass**, Multiplexed microsphere-based flow cytometric immunoassays for human cytokines. *Journal of Immunological Methods*, **2003**. 279(1-2): p. 277-285.
89. **Vignali, D.A.A.**, Multiplexed particle-based flow cytometric assays. *Journal of Immunological Methods*, **2000**. 243(1-2): p. 243-255.
90. **Landfester, K., N. Bechthold, F. Tiarks, and M. Antonietti**, Miniemulsion Polymerization with Cationic and Nonionic Surfactants: A Very Efficient Use of Surfactants for Heterophase Polymerization. *Macromolecules*, **1999**. 32(8): p. 2679-2683.
91. **Wood, R.W. and A.L. Loomis**, *Phil. Mag.*, **1927**. 4: p. 417.
92. **Mason T. J.**, *Ultrason. Sonochem.*, **1992**. 30: p. 192.
93. **Nico, S. and L. Katharina**, Encapsulation of Organic Pigment Particles Via Miniemulsion Polymerization. *Macromolecular Materials and Engineering*, **2007**. 292(10-11): p. 1111-1125.
94. **Andreiadis, E.S.**, Luminescent Lanthanide Architectures for Applications in Optoelectronics *Thèse de l'Université Joseph Fourier, Grenoble 1*, **2009**.
95. **Andreiadis, E.S., D. Imbert, J. Pecaut, R. Demadrille, and M. Mazzanti**, Self-assembly of highly luminescent lanthanide complexes promoted by pyridine-tetrazolate ligands. *Dalton Transactions*, **2012**. 41(4): p. 1268-1277.

Chapitre 4 : Application des nanoparticules pour le codage optique et les agents de contraste

Table des matières

1	Latex multi-luminescents : création de codes optiques	198
1.1	Introduction	198
1.2	Propriétés de luminescence de $\text{Ln}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$	199
1.3	Création de codes optiques dans les latex : preuve de concept	207
1.4	Conclusion.....	209
2	Nanoparticules de silice dopées par un chélate de Gd(III) : agent de contraste.....	210
2.1	Introduction	210
2.1.1	Principe de l'Imagerie par Résonance Magnétique (IRM)	210
2.1.2	Concepts de relaxation et de relaxivité.....	211
2.1.3	Les chélates de Gd(III) comme agents de contraste	213
2.1.4	Nanomatériaux dopés par des complexes de Gd(III).....	216
2.2	Incorporation de $[\text{Gd}(\text{ebpatcn})\text{H}_2\text{O}]$ dans des nanoparticules de silice par voie micellaire inverse.....	218
2.2.1	Synthèse et caractérisation des particules de silice dopés par $[\text{Gd}(\text{ebpatcn})\text{H}_2\text{O}]$	218
2.2.2	Propriétés de relaxivité de $[\text{Gd}(\text{ebpatcn})(\text{H}_2\text{O})]$ incorporé dans la silice	219
2.3	Conclusion.....	222
	Bibliographie du chapitre 4	223

Chapitre 4 : Application des nanoparticules pour le codage optique et les agents de contraste

Les chapitres 2 et 3 ont consisté à détailler les mécanismes d'incorporation des organolanthanide dans des matrices de silice et de polymère. Un travail important a été accompli pour contrôler et comprendre ces mécanismes. De plus, un effort particulier a été fait pour caractériser précisément les objets luminescents obtenus. Ce dernier chapitre tire parti des connaissances acquises lors des deux précédents pour envisager le développement de nouveaux systèmes originaux. Ainsi des nanoparticules de polymère luminescentes, dont l'émission peut être ajustée en fonction des lanthanides utilisés, seront présentées. Dans un deuxième temps, les propriétés de relaxivité d'un complexe de gadolinium incorporé dans des nanoparticules de silice seront détaillées.

1 Latex multi-luminescents : création de codes optiques³

Le développement de ces latex fait suite au travail détaillé dans le chapitre 3. Le principe de code optique ainsi que les prérequis nécessaires à sa création ont été largement introduits dans le chapitre 1, et ne seront donc pas rappelés ici. En revanche un aperçu des différents systèmes multi-luminescents déjà existants sera donné en guise d'introduction.

1.1 Introduction

Depuis le séquençage complet de l'ADN du génome humain, de plus en plus d'informations sur les biomolécules sont nécessaires, que ce soit pour des travaux de recherche ou des diagnostics cliniques. Il s'agit de pouvoir détecter et quantifier les milliers d'entités biologiques d'intérêt présentes dans l'échantillon analysé. Pour ce faire, l'utilisation de particules codées possédant une réactivité spécifique semble très prometteuse. Cette technique a déjà été utilisée dans différents domaines comme le séquençage de l'ADN [1], l'imagerie biomédicale [2], ou pour des diagnostics cliniques [3]. La limitation principale est le nombre de codes qui peuvent être différenciés simultanément dans un même échantillon. De nombreuses méthodes sont ainsi envisagées pour contourner ce problème. Seules les codes basés sur la luminescence seront abordés ici, mais de nombreux autres ont été imaginés comme cela est détaillé dans les revues de R. Wilson [4] et K. Braeckmans [5]. Le code est créé en incorporant des quantités variables d'espèces luminescentes possédant des spectres d'émission différents. Le nombre de code (C) dépend donc du nombre de

³ Dépôt d'un brevet : « *Utilisation de complexes de lanthanides pour le marquage optique de produits (FR1256609)* » N. Wartenberg, O. Raccurt, D. Imbert, M. Mazzanti.

Article « *Multicolour Optical Coding from a Series of Luminescent Lanthanide Complexes with a Unique Antenna* » N. Wartenberg, O. Raccurt, E. Bourgeat-Lami, D. Imbert, M. Mazzanti. *Chemistry A Eur. J.*, **2013** (DOI : 10.1002/chem.201203657)

« couleurs » (m) et du nombre de niveaux d'intensité (N) selon la formule N^{m-1} . Les meilleurs systèmes sont ceux permettant une excitation commune des différentes espèces luminescentes. Historiquement les particules multi-luminescentes ont été développées pour améliorer les techniques de quantification d'échantillons biologiques comme le test ELISA [6]. Les premiers systèmes utilisés avec succès sont des particules de polystyrène de taille micrométrique contenant une ou deux molécules luminescentes à différentes concentrations [6-10]. Le même type de système a été développé plus récemment par M.A. Winnik et son équipe en incorporant des organolanthanides dans des microparticules ou des nanoparticules de latex [11-14]. L'incorporation de chromophores organiques [15] ou d'organolanthanides [16] peut également se faire dans des nanoparticules de silice. Les nanocristaux d'oxyde de terres rares [17, 18] et les quantum dots [2, 19, 20] ont également été utilisés pour la création de codes optiques. Grâce à ces systèmes il est possible, sous une même excitation, de créer des codes en jouant respectivement sur la nature du dopant ou la taille des nano cristaux.

L'utilisation d'organolanthanides doit permettre en théorie de générer un grand nombre de codes sous une même excitation en faisant varier la nature de la terre rare coordonnée. Cependant l'excitation efficace à une même longueur d'onde de plusieurs terres rares à partir d'une même antenne organique est délicate. En effet comme cela a été exposé dans le premier chapitre, les états excités du ligand doivent être compatibles avec ceux des terres rares. C'est pourquoi actuellement les nanoparticules multi-luminescentes à base d'organolanthanides sont limitées à deux ou trois terres rares [16, 21] qui émettent généralement exclusivement dans le visible. Le développement de ligands capables d'exciter efficacement toute la famille des terres rares présente donc un intérêt considérable. De plus, l'émission dans le proche infrarouge est particulièrement recherchée pour l'imagerie en milieu biologique (transparence des tissus, voir chapitre 1).

1.2 Propriétés de luminescence de $\text{Ln}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$

L'incorporation du complexe $\text{Eu}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$ dans un latex a été largement décrite et caractérisée dans le chapitre 3. Une précédente étude a montré que le ligand H_2pytz utilisé (pyridine tétrazole) permettait d'exciter efficacement le Nd(III) , l' Eu(III) et le Tb(III) [22]. Les propriétés de luminescence de $\text{Ln}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$ pour tous les lanthanides ont donc été étudiées afin d'évaluer la pertinence de ce système pour la création de codes optiques. La synthèse des différents complexes a été effectuée comme précédemment à partir de solutions de Ln(OTf)_3 . Le spectre RMN du proton a été enregistré dans le méthanol deutéré pour vérifier la formation de $\text{Ln}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$. Les spectres RMN sont ainsi obtenus pour des complexes de lanthanide représentatifs de la série : Yb(III) (plus petit rayon ionique), Nd(III) (le plus grand) et Eu(III) (intermédiaire) (Figure 126).

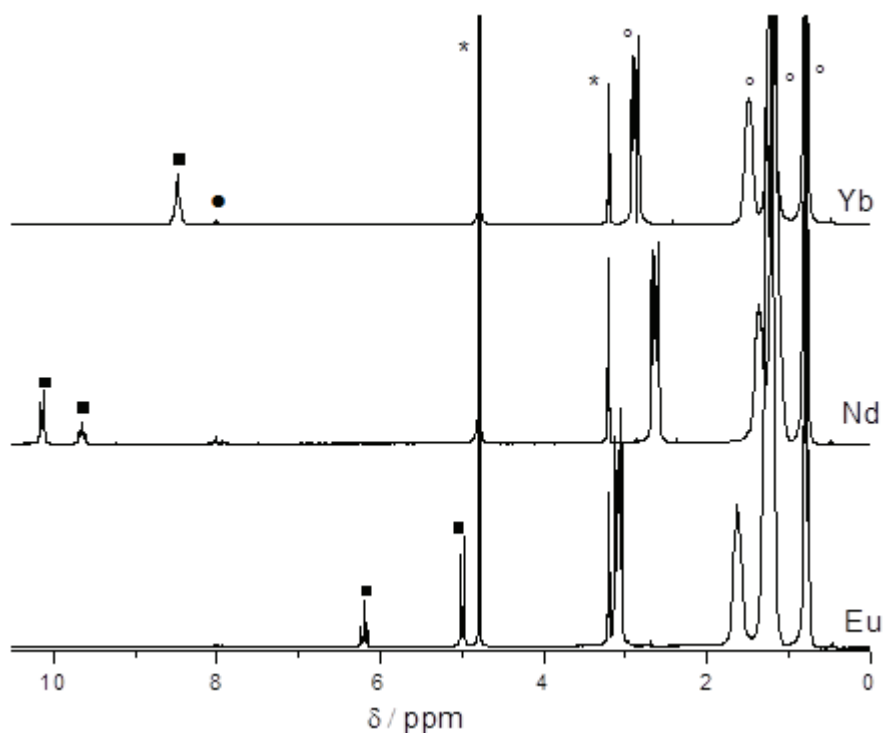


Figure 126 Spectre RMN ^1H de $\text{Ln}(\text{L10})_3(\text{NHOct}_3)_3$ ($\text{Ln}=\text{Yb, Nd, Eu}$, ■) dans MeOD à 298 K ($\text{Oct}_3\text{NH}^+ = \circ$, ligand seul = ●, H_2O et MeOH = *)

Pour les trois complexes le spectre RMN ^1H révèle la présence de deux résonances, un triplet et un doublet (qui sont confondus dans le cas de l'Yb) qui correspondent aux neuf protons des trois ligands H_2pytz (■). Les déplacements chimiques variables observés viennent des propriétés paramagnétiques différentes entre les trois terres rares. Les 4 résonances provenant des contre-ions ammonium sont également observées (\circ). Ces résultats sont en accord avec la formation d'un complexe rigide respectant la stœchiométrie [3:1] entre le ligand et la terre rare. Le signal du ligand non coordonné est de plus négligeable (●).

Les propriétés de luminescence des complexes $\text{Ln}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$ dissout dans le méthanol et à l'état solide ont ensuite été mesurées pour $\text{Ln} = \text{Eu, Tb, Sm, Dy, Ho, Tm, Nd, Yb, Pr, Er}$. Les temps de vie et les rendements quantiques pour les différents lanthanides sont ainsi résumés au Tableau 39.

Tableau 39 Rendements quantiques et temps de vie de de $\text{Ln}(\text{L10})_3(\text{NHOOct}_3)_3$, à l'état solide et dissout dans le méthanol.

Ln	Temps de vie (ms) Solide	Temps de vie (ms) Dans le méthanol	Rendement quantique (%) Solide	Rendement quantique (%) Dans le méthanol
Eu	3,11	3,38	59,3	29,1
Tb	1,54	2,28	66,2	70,2
Dy	0,07	0,06	6,6	6,2
Sm	0,11	0,10	1,5	1,4
Ho	- ^a	- ^a	0,01	0,01
Pr	- ^a	- ^a	0,04	0,01
Tm	- ^a	- ^a	0,06	0,04
Nd	- ^a	- ^a	0,21	0,18
Yb	- ^a	- ^a	0,35	0,37
Er	- ^a	- ^a	0,0005	0,0001

^a Non mesuré car le temps de vie est trop faible.

Les rendements quantiques mesurés pour l'Eu(III) et le Tb(III) à l'état solide sont parmi les plus élevés jamais reporté dans la littérature [23-25]. De plus ceux mesurés pour le Sm(III) et le Dy(III), pour qui les désexcitations non radiatives sont plus présentes, dénotent également une excitation efficace. Les rendements quantiques mesurés sont similaires à ceux reportés dans la littérature que ce soit dans le visible [24, 26, 27] ou le proche infrarouge [26, 28, 29]. Ces complexes peuvent ainsi théoriquement être utilisés pour générer des codes à partir de dix spectres d'émission différents et sous une même excitation (Figure 127, Figure 128 et annexe 4).

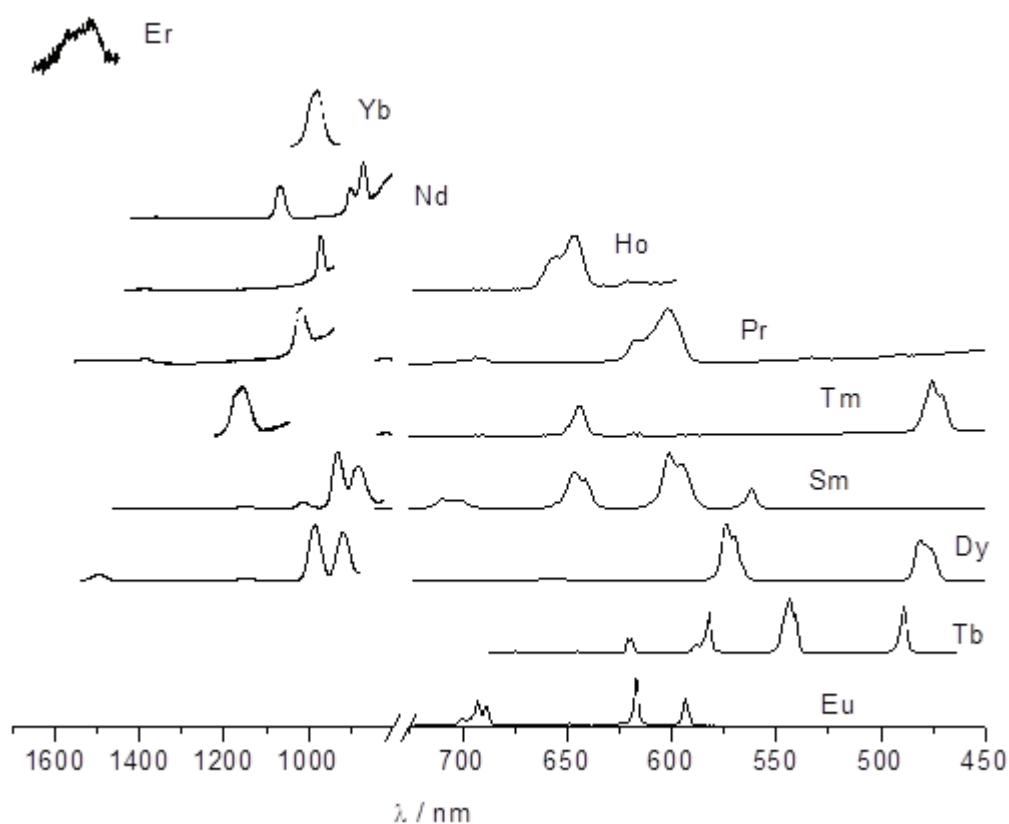


Figure 127 Spectres d'émission des complexes de $\text{Ln}(\text{pytz})_3(\text{NHOOct}_3)_3$ dans le méthanol avec une excitation à 322 nm.

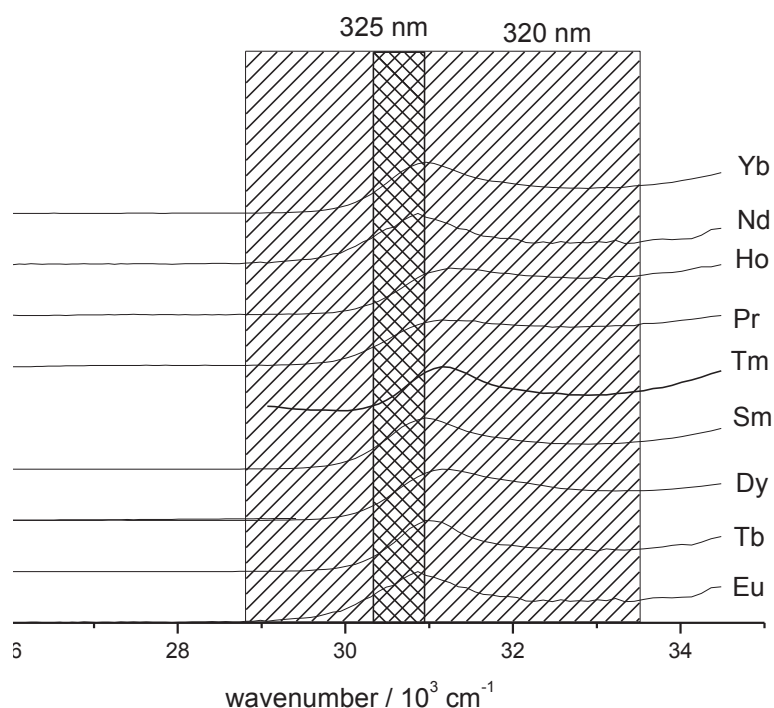


Figure 128 Spectres d'excitation des complexes $\text{Ln}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$ dans le méthanol enregistrés à leur maximum d'émission.

Tous les spectres d'excitation sont similaires quel que soit le lanthanide utilisé. Ceci indique que l'excitation s'effectue bien par le ligand et que le transfert d'énergie vers la terre rare est efficace. Le maximum d'excitation est compris entre 320 et 325 nm (Figure 128). Sous cette excitation les bandes d'émission caractéristiques des différents lanthanides sont alors bien enregistrés (Figure 127). Les spectres d'émission et d'excitation enregistrés à l'état solide sont identiques ce qui indique que la structure des complexes est conservée dans le méthanol (annexe). Ainsi en se basant sur les différents spectres d'émission du visible jusqu'à l'infrarouge, et sur les quantités incorporées dans les latex, la superposition des différents signaux permet théoriquement d'obtenir un signal global complexe, comme cela est illustré avec quatre lanthanides à la Figure 129.

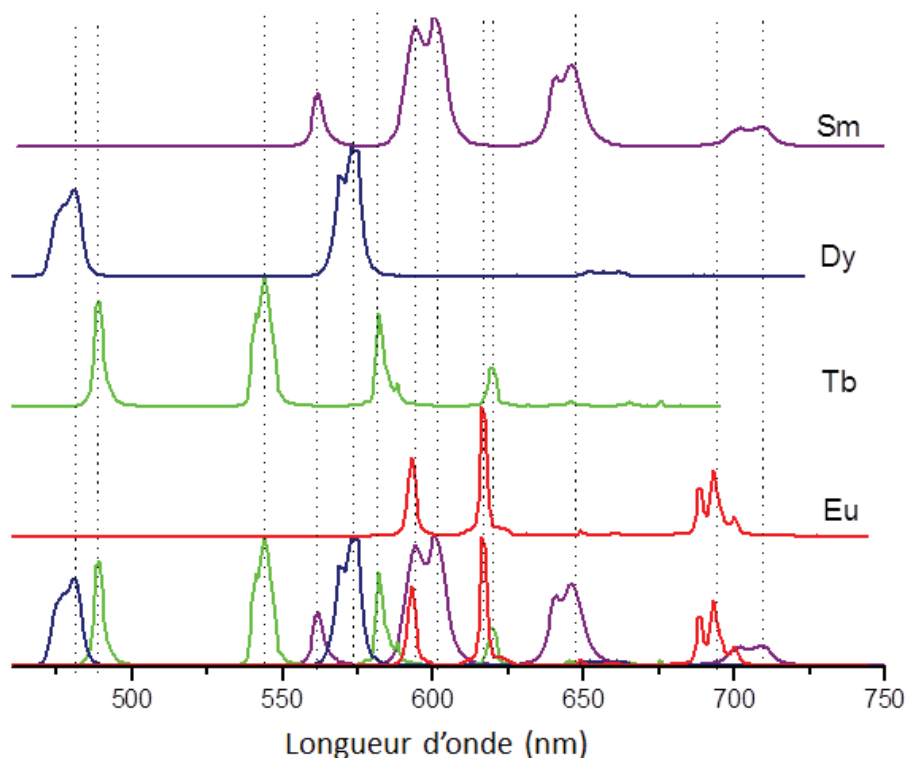


Figure 129 Principe de la création de codes optiques à partir de $\text{Ln}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$. Exemple théorique de superposition des spectres d'émission normalisés pour $\text{Ln}=\text{Eu}, \text{Tb}, \text{Sm}, \text{Dy}$.

Il est en revanche assez délicat de donner un nombre précis de codes accessibles. En effet si dix signaux différents peuvent être utilisés, le nombre de niveau d'intensité est lui plus difficile à estimer. Certaines superpositions pourraient empêcher l'utilisation simultanée de certains lanthanides, notamment ceux pour lesquels le rendement quantique est très faible. De plus comme cela est illustré à la Figure 129, il est possible que l'identification des différents pics d'émission soit difficile pour certaines configurations dans certaines régions du spectre visible entre 550 et 650 nm. Néanmoins le fait d'être capable de synthétiser des nanoparticules dont l'émission peut être ajustée par dix signaux différents sous une même excitation est remarquable pour ce type de système (*i.e.* nanoparticules dopées par des molécules lumineuses).

Afin d'étudier la pertinence de ce système pour le développement de codes optiques, des études préliminaires ont été effectuées. Deux solutions de $\text{Ln}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$ ($\text{Ln}=\text{Eu}, \text{Tb}, \text{Dy}, \text{Sm}$) ont été préparées dans le méthanol avec des ratios différents en terre rare (Tableau 40). Ces deux échantillons ont été préparés par simple mélange de solutions de complexes dissous dans le méthanol à 10^{-2} M. A partir des rendements quantiques mesurés dans le méthanol pour chaque complexe de lanthanide et des volumes mis en jeu, il est possible de calculer les rendements quantiques des deux échantillons préparés (Tableau 40). Par exemple pour l'échantillon 1 le rendement quantique total de la solution peut être calculé comme suit :

$$\Phi_{\text{total}} = \Phi_{\text{Eu}} + \Phi_{\text{Tb}} + \Phi_{\text{Dy}} + \Phi_{\text{Sm}}$$

$$\begin{aligned} \text{Soit } \Phi_{\text{total}} &= (5,4/(5,4+1+8,7+13,8)) \times 29,1 + (1/(28,9)) \times 70,2 + (8,7/(28,9)) \times 6,2 + (13,8/(28,9)) \times 1,4 \\ &= 5,4 + 2,4 + 1,9 + 0,7 \\ &= 10,4 \% \end{aligned}$$

A partir des rendements quantiques mesurés dans le méthanol, les ratios permettant d'obtenir un spectre d'émission avec les transitions principales des quatre terres rares au même niveau d'intensité ont également été calculés (Tableau 40, spectre calculé). Le spectre d'émission résultant a été calculé et est représenté à la Figure 130 (b). Les spectres d'émission des échantillons 1 et 2 ont quant à eux été enregistrés et sont présentés à la Figure 130 (c) et (d) respectivement.

Tableau 40 Composition des échantillons 1 et 2 préparés à partir des solutions de $\text{Ln}(\text{L10})_3(\text{NHOct}_3)_3$ ($\text{Ln}=\text{Eu, Tb, Dy, Sm}$) dans le méthanol à 10^{-2} M. Le volume final de ces solutions est de 500 μL et leur concentration de $8,9 \cdot 10^{-3}$ M et $4,4 \cdot 10^{-3}$ M pour 1 et 2 respectivement.

		Spectre calculé	Echantillon 1			Echantillon 2		
<i>Ln</i>	$\Phi_{\text{MeOH}} (\%)$	<i>Ratio</i>	<i>Ratio</i>	<i>V</i> (μL)	$\Phi_{\text{MeOH}} (\%)$ calculé	<i>Ratio</i>	<i>V</i> (μL)	$\Phi_{\text{MeOH}} (\%)$ calculé
Eu	29,1	2,4	5,4	54	5,4	2,7	27	1,8
Tb	70,2	1	1	1	2,4	1	10	1,6
Dy	6,2	11,4	8,7	87	1,9	11,8	118	1,7
Sm	1,4	50	13,8	138	0,7	28,4	284	0,9
Total					10,4			6,0

Les rendements quantiques mesurés des échantillons 1 et 2 sont respectivement égaux à 13 et 8 % et sont en accords avec ceux calculés précédemment : 10,4 et 6,0 % (Tableau 40). Les complexes semblent donc adaptés pour des applications de multiplexing puisqu'à une longueur d'onde d'excitation unique peut être associée les émissions caractéristiques des différentes terres rares. Il n'y a pas d'interactions entre les différents complexes ce qui permet d'ajuster facilement le signal d'émission global en jouant sur la quantité et la nature des complexes de lanthanide utilisés.

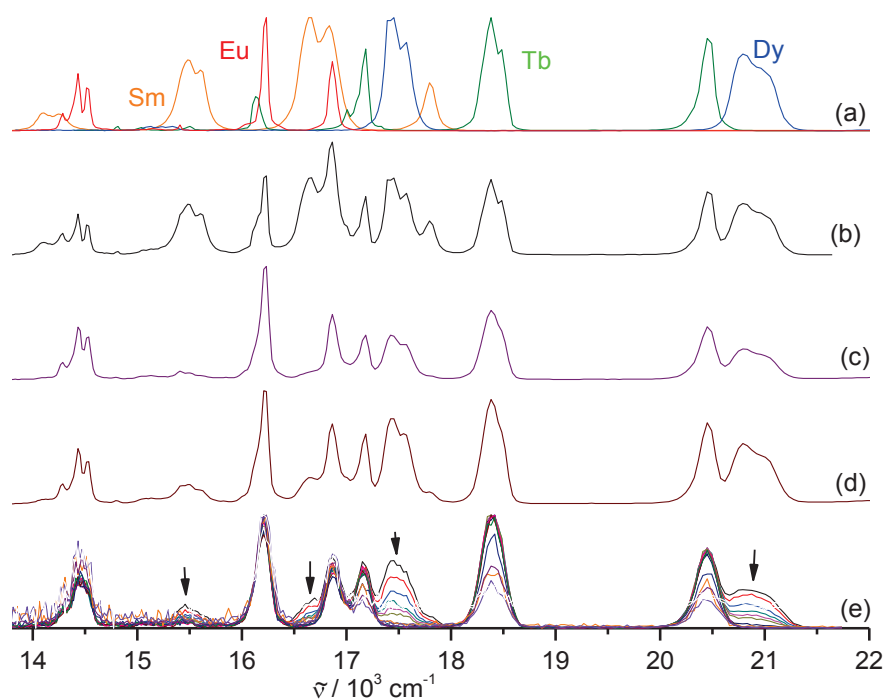


Figure 130 (a) Superposition des spectres d'émission normalisés de $\text{Ln}(\text{L10})_3(\text{NHOct}_3)_3$ dans le méthanol ($2,3 \cdot 10^{-3} \text{ M}$, $\text{Ln}=\text{Eu, Tb, Sm, Dy}$) ; (b) Spectre théorique calculé à partir des superpositions des spectres d'émission normalisés des quatre terres rares ; (c), (d) Spectres d'émission mesurés expérimentalement à partir des échantillons 1 (c) et 2 (d) ; (e) Spectres d'émission en temps résolu entre 0 et 15 ms (excitation à 322 nm) de l'échantillon 2.

Un autre niveau de codage pourrait être imaginé en se basant sur les temps de vie. En effet chaque complexe de terre rare est caractérisé par un temps de vie différent (Tableau 39). La luminescence en temps résolu permet d'enregistrer la décroissance des spectres d'émission au cours du temps (Figure 130 (e)). Pour plus de clarté, les spectres d'émission enregistrés entre 0 et 15 ms après l'excitation (pulse) sont représentés à la Figure 131. En fonction du délai entre le pulse d'excitation et la mesure, les spectres d'émission évoluent du fait de la disparition progressive des pics caractéristiques des différents complexes. Ainsi du fait de leur temps de vie plus court (de l'ordre de la microseconde), les pics d'émission du Dy(III) et du Sm(III) ont quasiment entièrement disparu après un délai de 0,5 ms. En revanche les pics d'émission caractéristiques de l' Eu(III) et du Tb(III) , qui ont un temps de vie de l'ordre de la milliseconde, restent parfaitement visibles (Figure 131).

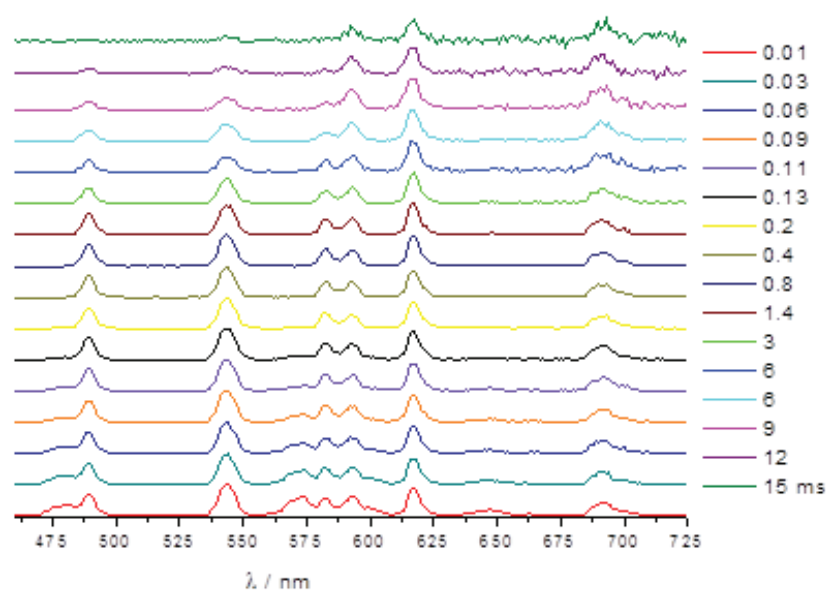


Figure 131 Evolution du spectre d'émission de l'échantillon 2 en temps résolu entre 0,01 et 15 ms. (excitation à 322 nm).

Ainsi en fonction du délai appliqué en temps résolu, des spectres d'émission différents peuvent être obtenus à partir d'une même solution. Cette évolution peut être suivie à partir des rapports d'intensité entre les différents complexes comme cela est illustré à la Figure 132 pour l'échantillon 2.

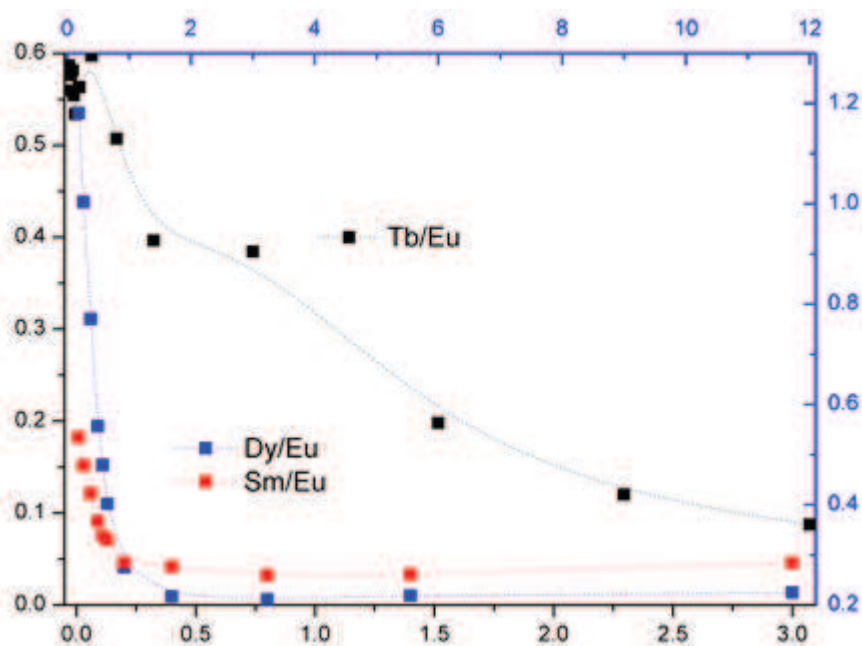


Figure 132 Evolution du ratio entre les intensités d'émission de $\text{Ln}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$ (Ln=Eu,Tb,Sm,Dy) au cours du temps pour l'échantillon 2 en temps résolu entre 0 et 12 ms. Excitation à 322 nm.

Le complexe $\text{Ln}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$ permet donc à priori d'obtenir un grand nombre de spectres d'émission sous une même longueur d'onde d'excitation. Cette émission est modulable en jouant sur la nature des lanthanides utilisés, leur concentration et leur temps de vie. Ce système semble donc très prometteur pour des applications de multiplexing en imagerie biomédicale ou pour le développement de codes d'authentification pour l'anti-contrefaçon.

1.3 Création de codes optiques dans les latex : preuve de concept

L'incorporation de $\text{Ln}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$ dans des nanoparticules de PMMA ainsi que les propriétés du latex luminescent formé ont été longuement décrites dans le chapitre 3. Le même protocole, stabilisé par le tensio-actif cationique CTAB a été utilisée pour synthétiser des sondes multi-luminescentes. Deux solutions de complexes dissous dans le MMA ont ainsi été polymérisées en miniémulsion. Il s'agissait de s'assurer que le type de terre rare n'avait pas d'influence sur l'incorporation, et de vérifier notre capacité à générer des codes luminescents dans les latex. Les latex de PMMA ont été dopés respectivement avec les ions lanthanides $\text{Eu(III)}/\text{Tb(III)}/\text{Dy(III)}$ et $\text{Eu(III)}/\text{Tb(III)}/\text{Dy(III)}/\text{Sm(III)}$. Les spectres d'émission des deux latex dialysés excités à 306 nm sont présentés à la figure 8. Le spectre d'émission du latex dopé par un mélange de $\text{Ln}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$ avec $\text{Ln}=\text{Eu, Tb, Dy}$ (Figure 133 (b)) est bien constitué de la superposition des émissions des trois terres rares utilisés. Même si le spectre d'émission du latex dopé par un mélange de $\text{Ln}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$ avec $\text{Ln}=\text{Eu, Tb, Dy, Sm}$ (Figure 133 (c)) ressemble fortement au spectre précédent, la contribution du Sm(III) est clairement identifiable. L'apparition de pics à attribuables au Sm(III) sont visibles à 560, 600, 645 et 710 nm. Le pic à 593 nm est également plus intense sur le spectre (c) du fait de la superposition des signaux du Sm(III) et de l' Eu(III) . Les rendements quantiques de ces deux latex sont présentés au Tableau 41 en prenant l'eau ou un latex de PMMA non dopé comme référence.

Tableau 41 Rendements quantique des latex de PMMA dopés par $\text{Ln}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$ avec $\text{Ln}=\text{Eu,Tb,Dy}$ et $\text{Ln}=\text{Eu,Tb,Dy,Sm}$ à 306 nm en prenant l'eau ou un latex de PMMA comme référence.

Ln	Φ (%) Par rapport à l'eau	Φ (%)Par rapport au latex de PMMA
Eu/Tb/Dy	20	30
Eu/Tb/Dy/Sm	5	8

De plus, comme cela était attendu la modification de la terre rare n'affecte pas le procédé d'incorporation par polymérisation en miniémulsion stabilisée par le CTAB. Le suivi des polymérisations indique qu'il n'y a aucune modification notable comparée à l'incorporation de $\text{Eu}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$ présentée au chapitre 3 (annexe).

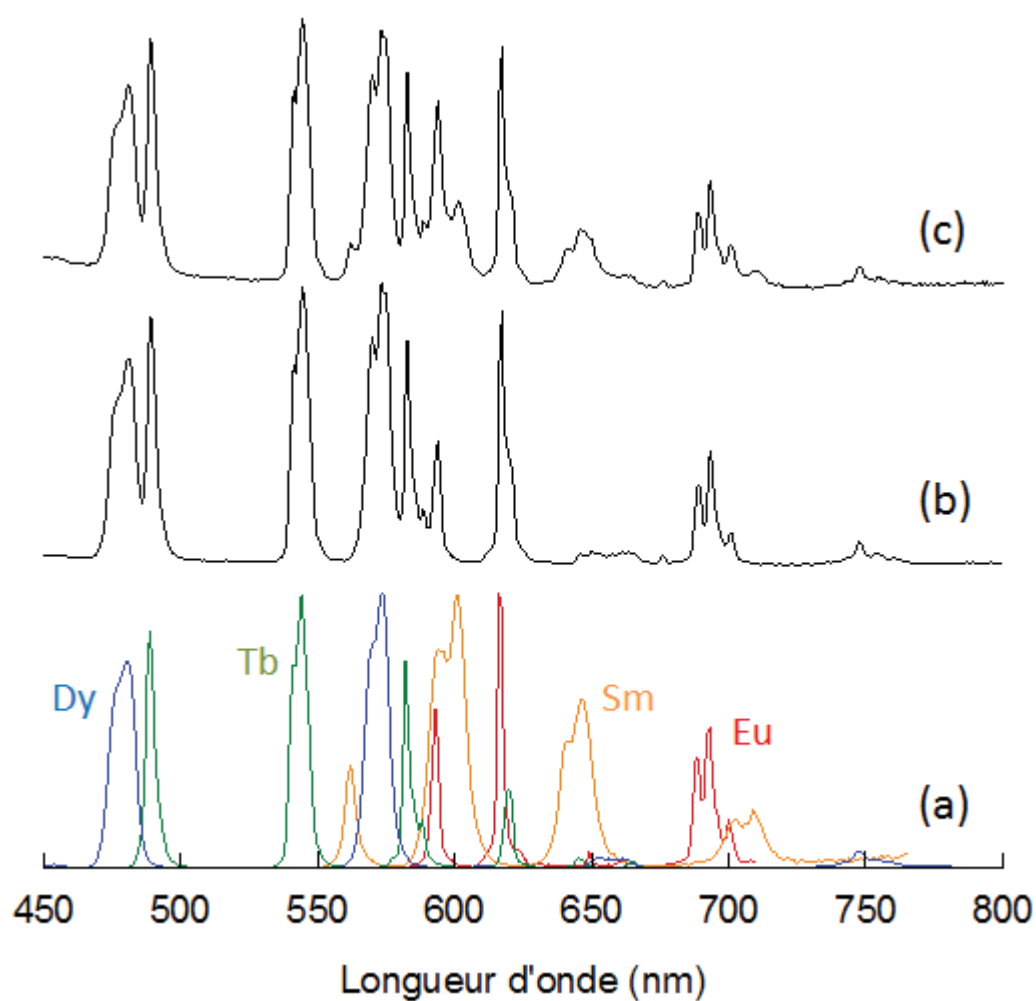


Figure 133 Spectres d'émission normalisés de $\text{Ln}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$ dans le méthanol ($2,3 \cdot 10^{-3}$ M, $\text{Ln} = \text{Eu}$, Sm , Tb , Dy) (a). Spectres d'émission de $\text{Ln}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$ incorporés dans des latex de PMMA avec $\text{Ln} = \text{Eu}$, Tb , Dy (b), et $\text{Ln} = \text{Eu}$, Tb , Dy , Sm (c). Excitation à 306 nm.

1.4 Conclusion

Le complexe $\text{Ln}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$ permet d'exciter efficacement jusqu'à dix terres rares émettant du visible au proche infrarouge à partir d'une source unique. Il représente donc une plateforme particulièrement intéressante pour le développement de sondes multi-luminescentes pour l'imagerie biomédicale ou pour la création de codes d'authentification pour l'anti-contrefaçon. En effet le seul ligand H_2pytz permet, sous une même longueur d'onde d'excitation, de modifier le spectre d'émission en choisissant jusqu'à dix spectres différents, en faisant varier leur intensité, voire en enregistrant les spectres en temps résolu. L'effort porté sur l'incorporation de $\text{Ln}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$ lors du chapitre 3 permet d'envisager la combinaison des remarquables propriétés de ces complexes avec celles des latex. Il a ainsi été possible de marquer deux latex de PMMA contenant jusqu'à quatre lanthanides différents et parfaitement identifiables sous excitation UV. Cependant un travail d'optimisation est encore nécessaire afin d'étudier les limites de ce système. En effet les différences importantes des rendements quantiques mesurés risquent de limiter les niveaux d'intensité accessibles et donc le nombre de codes.

La solubilité de $\text{Ln}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$ dans le MMA est due aux ions trioctylammonium comme cela a été abordé dans le chapitre 3. Il est ainsi possible d'ajuster la solubilité de ce complexe, notamment en utilisant les ions triéthylammonium. Le complexe $\text{Ln}(\text{pytz})_3(\text{NHEt}_3)_3$ est alors soluble dans l'eau et il conserve ses propriétés de luminescence pendant plusieurs jours avant de se dissocier partiellement (annexe 5). Il resterait donc stable suffisamment longtemps pour envisager son incorporation dans des nanoparticules de silice par microémulsion inverse. Cette voie permettrait de contourner la toxicité du CTAB actuellement indispensable pour l'incorporation de $\text{Ln}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$ dans les latex. Si l'incorporation de $\text{Ln}(\text{pytz})_3(\text{NHEt}_3)_3$ dans une nanoparticule de silice permet d'empêcher durablement la dissociation progressive du complexe, alors la biocompatibilité de la silice permettrait d'envisager une application pour le multiplexing.

2 Nanoparticules de silice dopées par un chélate de Gd(III) : agent de contraste⁴

Cette partie traite de l'utilisation d'un ion lanthanide particulier, le Gd(III). Les complexes de Gd(III) sont en effet très utilisés comme agent de contraste pour l'IRM en milieu hospitalier. Le confinement de ces molécules dans des nanomatériaux suscite un intérêt croissant pour des applications en imagerie biomédicale. Dans ce contexte, le complexe $[\text{Gd}(\text{ebpatcn})\text{H}_2\text{O}]$ a été incorporé par microémulsion inverse dans des nanoparticules de silice selon les protocoles décrits et caractérisés au chapitre 2. Les résultats de cette partie de la thèse ont été obtenus en collaboration avec le Dr P.-H. Fries qui développe les méthodes de caractérisation et la théorie des agents de contraste au Laboratoire de Reconnaissance Ionique et Chimie de Coordination du CEA-Grenoble. Sous certaines conditions structurales et dynamiques à l'échelle de quelques nanomètres ses théories prévoient que des nanosystèmes convenablement dopés par des chélates de Ln(III) ont des performances exceptionnelles en termes d'augmentation du contraste d'image. En nous appuyant sur des caractérisations et des interprétations RMN faites par P. H. Fries, nous avons trouvé des taux de dopage appropriés pour des nanoparticules de deux tailles différentes. L'objectif de cette partie est d'introduire les concepts de base relatifs aux agents de contraste, permettant de discuter qualitativement les résultats obtenus et de les situer par rapport aux systèmes déjà publiés.

2.1 Introduction

2.1.1 Principe de l'Imagerie par Résonance Magnétique (IRM)

L'imagerie par résonance magnétique (IRM) est un outil de diagnostic médical rendant possible l'observation des tissus mous des organismes vivants avec une résolution anatomique excellente, atteignant 1 à 0,1 mm. Cette technique permet d'obtenir une image tridimensionnelle de la répartition de l'eau dans le corps d'un patient. Elle est basée sur l'observation de la résonance magnétique nucléaire (RMN) des protons de l'eau qui composent 70 % à 90 % de la plupart des tissus de l'organisme. Le patient est placé dans un champ magnétique statique (B_0) qui est actuellement compris entre 0,5 et 3 T en milieu hospitalier. Un gradient linéaire de champ magnétique est également appliqué dans le cas de l'IRM afin de permettre l'encodage de l'information spatiale de chaque noyau. Ensuite, une impulsion radiofréquence est appliquée perpendiculairement au champ magnétique pour créer un signal mesurable dû à l'aimantation nucléaire précessant autour du champ magnétique appelé signal d'induction libre. C'est la décroissance temporelle de cette induction libre des spins nucléaires qui est mesurée. Après cette impulsion, le retour à l'équilibre de la composante de l'aimantation nucléaire selon l'axe du champ magnétique (par exemple l'axe z) suit une loi mono exponentielle caractérisée par une constante de temps appelée temps de relaxation longitudinale T_1 . De même, l'évolution de la composante de l'aimantation transverse (perpendiculaire au champ magnétique, et donc selon le plan Oxy) est caractérisée par le temps de relaxation transversale noté

⁴ Communication « *A Gadolinium Complex Confined in Silica Nanoparticles as Highly Efficient T_1/T_2 MRI Contrast Agent* » N. Wartenberg, O. Raccurt, D. Imbert, P.-H. Fries, A. Guillermo, M. Mazzanti. Soumise à J. Am. Chem. Soc.

T_2 . Une image IRM est donc une carte 3D en niveau de gris donnant les valeurs des temps de relaxation transversales ou longitudinales. L'intensité mesurée pour un élément de volume (voxel) est fonction des temps de relaxation du tissu et est proportionnelle à la concentration en eau à l'endroit considéré. La relaxation des spins nucléaires étant dépendante de leurs interactions avec le milieu environnant, les valeurs de T_1 et T_2 permettent de caractériser les différents tissus et de révéler la présence d'altérations grâce aux différences de densité et de relaxation de l'eau (voir Tableau 42).

Tableau 42 Exemples de temps de relaxation T_1 (ms) à 1,7 T pour différents tissus sains et malades.

Tissus	sain	malade
Foie	140-170	300-450
Pancréas	180-200	275-400
Rein	300-340	400-450
Prostate	250-325	350-400

Cependant, pour 30 % des analyses IRM le contraste d'image d'organes dans leur état naturel est insuffisant pour détecter une pathologie éventuelle. Dans ce cas, l'injection d'un agent de contraste paramagnétique est alors nécessaire afin d'augmenter spécifiquement le contraste des zones à analyser. Dans son voisinage cette espèce raccourcit les temps de relaxation proportionnellement à sa concentration et permet ainsi d'augmenter le contraste entre tissus sains et malades. L'efficacité d'un agent de contraste, autrement dit sa capacité à augmenter les vitesses de relaxation des protons des molécules d'eau environnantes, est appelé relaxivité.

2.1.2 Concepts de relaxation et de relaxivité

La vitesse de relaxation d'un spin nucléaire à proximité d'un spin électronique est la somme d'une contribution diamagnétique, due à des mécanismes de relaxation des noyaux en l'absence d'agent de contraste, et d'une contribution paramagnétique. En l'absence d'agents de contraste, les spins nucléaires étudiés ont des vitesses de relaxation, notées $R_{10} = 1/T_{10}$ et $R_{20} = 1/T_{20}$. Supposons que des agents de contraste soient injectés dans le système et s'y distribuent localement à la concentration c (mM). En présence de ces agents, les vitesses de relaxation ont des valeurs plus élevées $R_1 = 1/T_1$ et $R_2 = 1/T_2$. Les augmentations des vitesses de relaxation longitudinale et transverse dues aux agents sont :

$$R_{ip} = R_i - R_{i0} \quad (i=1,2)$$

La contribution paramagnétique R_{ip} ($i=1,2$) est désignée sous le terme d'augmentation paramagnétique de relaxation ou PRE (Paramagnetic Relaxation Enhancement). Elle est liée aux fluctuations temporelles de l'interaction entre le moment magnétique des électrons non appariés de l'ion paramagnétique et le moment magnétique du noyau. La PRE est proportionnelle à la concentration en espèce paramagnétique. Les relaxivités longitudinale r_1 et transverse r_2 sont définies pour $i = 1,2$ par :

$$r_i = \frac{R_{ip}}{c}$$

Les relaxivités r_1 et r_2 , exprimées en $s^{-1} \cdot mM^{-1}$, donnent les augmentations de R_1 et R_2 par mM d'agent de contraste ajouté. Ce terme représente l'efficacité d'un agent de contraste. Deux types

d'agent de contraste peuvent par ailleurs être distingués. Les agents sont de types T_1 ou T_2 suivant qu'ils affectent principalement la vitesse de relaxation longitudinale ou transversale. L'effet sur les images IRM est contraire et on parle respectivement d'agents de contraste positifs (l'intensité du signal augmente avec R_1) et négatifs (cette intensité diminue quand R_2 augmente). Les agents de type T_2 sont souvent des nanoparticules super paramagnétiques tels que l'oxyde de fer. La grande majorité des agents de contraste mis sur le marché sont des complexes de Gd(III) qui servent en imagerie T_1 , plus simple à interpréter. Ils ont une relaxivité $r_1 = 3$ à $4 \text{ s}^{-1} \cdot \text{mM}^{-1}$ dans les imageurs conventionnels, opérant à un champ magnétique moyen $B_0 = 0,5$ à $1,5 \text{ T}$. Dans cette gamme de valeurs de B_0 , la théorie prévoyant que r_1 peut atteindre des valeurs cent fois plus élevées, [30, 31] des progrès importants sont possibles. Plusieurs raisons concourent à vouloir augmenter la relaxivité: (i) la découverte de lésions plus petites, au début de leur développement, permettant un meilleur taux de guérison du malade avec un traitement plus léger, (ii) la possibilité de l'imagerie moléculaire du métabolisme, c'est-à-dire de l'observation d'une espèce moléculaire localisée et en faible quantité grâce à sa reconnaissance par un agent de contraste à très haute relaxivité, [32, 33] (iii) depuis peu, [34] le souci d'économiser les ions lanthanides Ln^{3+} , en particulier le gadolinium Gd^{3+} , utilisés dans la synthèse des agents de contraste et de minimiser la pollution médicale par ces agents due à leur excrétion après examen.

Jusqu'au début des années 2000, le champ magnétique B_0 des imageurs médicaux commerciaux était limité à $1,5 \text{ T}$. Depuis lors, près de 10 % des hôpitaux se sont équipés d'imageurs à 3 T . L'augmentation de B_0 permet de mieux extraire le contraste d'image du bruit de fond, une cartographie plus détaillée et une résolution spectrale prometteuse pour l'imagerie moléculaire [35]. Elle s'accompagne malheureusement d'une perte d'efficacité des agents de contraste en T_1 [30]. Les agents de contraste en T_2 suscitent donc un intérêt croissant dans la mesure où leurs performances se conservent lorsque B_0 croît [34, 36]. Afin de mieux appréhender ces effets, on admettra en se basant sur les équations de base de la relaxivité [37], que de manière générale R_{ip} dépend de plusieurs paramètres selon les équations suivantes :

$$R_{1p} \propto \frac{\tau}{1 + \omega_I^2 \tau^2} \times [H_{interaction}]^2 \quad (1)$$

$$R_{2p} \propto \left(\frac{2}{3} \tau + \frac{1}{2} \times \frac{\tau}{1 + \omega_I^2 \tau^2} \right) \times [H_{interaction}]^2 \quad (2)$$

Avec :

- τ un temps caractéristique d'un phénomène appelé temps de corrélation
- ω_I la fréquence angulaire ou pulsation du spin nucléaire
- $[H_{interaction}]$ un terme représentant l'énergie d'interaction (exprimée en $\text{rad} \cdot \text{s}^{-1}$) entre un spin magnétique nucléaire (ici un proton) et un spin magnétique électronique (ici un ion Gd(III)).

Ces équations simplifiées permettent de bien mettre en évidence l'importance de ces paramètres sur les valeurs de relaxivité. Il est alors facile de comprendre pourquoi l'efficacité des agents de contraste en T_1 diminue quand le champ B_0 augmente (équation 1). En effet une forte augmentation de ω_I entraîne la diminution du terme $\frac{\tau}{1 + \omega_I^2 \tau^2}$ et donc de R_{1p} . A l'inverse les agents de contraste

de type T_2 sont peu affectés par l'augmentation de ω_I du fait de la présence du terme $\frac{2}{3}\tau$ dans l'équation (2), qui ne dépend pas du champ. Les temps de corrélation seront introduits plus précisément dans le prochain paragraphe. Les équations (2) et (3) soulignent aussi que l'efficacité d'un agent de contraste est directement liée à ses propriétés magnétiques. Il est d'autant plus efficace que l'interaction entre son moment magnétique électronique et le moment magnétique nucléaire des protons du solvant est forte. Parmi les ions paramagnétiques le Gd(III) est le plus utilisé du fait de ses propriétés. En effet il possède 7 électrons non appariés, son temps de relaxation électronique est long aux champs de l'IRM et il possède un nombre de coordination élevé, très souvent de 8 ou 9, lui permettant à la fois d'être fortement chélaté par un ligand pour former un complexe biocompatible stable, et de se lier à une ou deux molécules d'eau. Ce sont ces molécules d'eau liées qui seront les plus affectées par l'ion paramagnétique. En effet l'ion Gd(III) est toxique aux doses requises pour l'IRM. Le fait d'utiliser le Gd(III) sous forme de chélate en utilisant un ligand organique permet d'éviter cette toxicité et de garantir une excrétion rapide de l'agent de contraste de l'organisme. De même que pour les organolanthanides luminescents, la conception du ligand est primordiale afin de s'assurer de la stabilité du complexe vis-à-vis du relargage du Gd(III) et d'optimiser ses performances. L'architecture des complexes influencent en effet l'efficacité de ces agents de contraste [23, 38, 39]. La relaxivité résulte d'une combinaison de propriétés structurales et dynamiques des molécules portant les spins nucléaires et des complexes de Gd(III) [40-45]. Même pour les complexes libres, les théories les plus simples dépendent déjà de nombreux paramètres moléculaires dont les valeurs sont difficiles à déterminer sans ambiguïté car leurs effets sur la relaxivité sont souvent redondants ou compensatoires. C'est pourquoi, nous aurons ici une approche théorique qualitative de la relaxivité.

2.1.3 Les chélates de Gd(III) comme agents de contraste

La relaxation des protons de l'eau provient donc principalement d'une interaction entre le spin nucléaire des protons et le spin électronique du Gd(III). Cette interaction dipolaire augmente rapidement (en $1/r^3$) quand la distance entre l'ion paramagnétique et les protons de l'eau diminue. La relaxivité d'un noyau est aussi fonction de son mouvement aléatoire relatif par rapport à l'ion Gd(III) complexé. Ce mouvement change avec l'espèce chimique portant le noyau. Considérons donc les noyaux (protons) des atomes d'hydrogène de l'eau. Pour calculer la relaxivité, il est utile de classer les molécules d'eau en fonction de leur dynamique par rapport au complexe de Gd(III). Trois catégories de molécules d'eau peuvent ainsi être distinguées :

- L'eau en **sphère externe**, pour laquelle la molécule d'eau a un mouvement translationnel de diffusion libre par rapport au complexe de Gd(III). La contribution de sphère externe provient de l'interaction dipolaire entre le spin nucléaire et le spin électronique lorsque les molécules d'eau diffusent à proximité du complexe. Le mécanisme est caractérisé par la distance minimale d'approche entre l'eau et l'ion paramagnétique et par le coefficient de diffusion relative D d'une molécule d'eau par rapport au complexe.
- L'eau en **première sphère de coordination**, directement liée à l'ion. La molécule d'eau accompagne le complexe de Gd(III) dans sa rotation brownienne sur lui-même, puis s'échange avec une molécule d'eau libre au bout d'un temps moyen de coordination τ_m , en général beaucoup plus long que la durée moyenne τ_r mise par le complexe pour pivoter d'un demi-tour et appelée temps de corrélation rotationnelle.

- L'eau en **deuxième sphère de coordination**, où elle est liée au ligand généralement par liaison hydrogène, de sorte qu'elle suit le complexe dans sa rotation brownienne sur lui-même, puis s'échange avec une molécule d'eau libre au bout d'un temps moyen souvent plus court que τ_r .

Trois mécanismes de relaxation différents cumulent leurs effets sur la relaxivité totale : le mécanisme de sphère externe, le mécanisme de sphère interne et le mécanisme de seconde sphère. La relaxivité totale théorique peut s'exprimer comme la somme des relaxivités induites par ces différents mécanismes d'interaction avec le complexe de Gd(III). En général, la contribution dominante est la relaxivité de sphère interne. Le mécanisme de sphère interne est décrit par la théorie de Solomon-Bloembergen-Morgan (SBM) mais elle ne sera pas abordée ici, pas plus que celles traitant des deux autres mécanismes. Nous nous contenterons dans cette thèse de présenter les principaux paramètres qui influencent l'augmentation paramagnétique longitudinale ou transversale selon le mécanisme de sphère interne (noté SI) d'après la théorie SBM qui s'écrit pour $i = 1,2$:

$$\frac{1}{T_i^{SI}} = \frac{qP_m}{T_{im} + \tau_m} \quad (3)$$

Avec :

- P_m la fraction molaire des molécules de solvant en première sphère de coordination
- q le nombre de molécules d'eau liées par centre métallique.
- T_{im} le temps de relaxation du proton d'une molécule d'eau dans l'hypothèse d'une coordination de durée infinie de cette molécule.
- τ_m le temps moyen de résidence des molécules d'eau dans la première sphère de coordination

D'après cette équation (3) il est clair que pour améliorer l'effet de relaxivité de sphère interne il s'agit d'augmenter q et de diminuer de $T_{im} + \tau_m$.

- **Nombre de molécules d'eau coordonnées q**

D'après l'équation (3) la relaxivité de sphère interne est proportionnelle au nombre de molécule d'eau liée au Gd(III). L'augmentation de q permet d'améliorer la relaxivité indépendamment du champ magnétique, mais entraîne une diminution de la stabilité thermodynamique et/ou cinétique du complexe. C'est pourquoi généralement une seule molécule d'eau est coordonnée.

- **Relaxation des protons de l'eau liée au Gd(III) T_{im}**

La relaxation des protons de l'eau liée est gouvernée par l'interaction dipôle-dipôle magnétique. Plusieurs paramètres peuvent moduler l'interaction entre le spin nucléaire du proton et le spin électronique du Gd(III). La variation de T_{im} en fonction du champ magnétique est également donnée à partir de la théorie de SBM mais l'équation résultante ne sera pas explicitée. Nous nous contenterons ici de décrire les principaux paramètres contrôlant les variations de T_{im} . Le lecteur intéressé pourra se référer à la revue de P. Caravan pour le détail des équations [39]. Les facteurs moléculaires permettant de moduler l'interaction entre les deux spins sont : la distance entre le spin nucléaire et le spin électronique (r_{GdH}), le temps de corrélation rotationnelle du complexe (τ_r), le temps moyen de résidence des molécules d'eau en première sphère de coordination (τ_m) et le

temps de relaxation électronique du Gd(III) T_{ie} . Cette description met ainsi en évidence l'influence de nouveaux paramètres et notamment l'influence du champ magnétique.

- **Distance r_{GdH}**

Cette distance est identique pour l'ion hydraté ou coordonné. Elle est égale à 3,1 angströms et peut être considérée comme indépendante de l'architecture du complexe [46]. Ce n'est donc pas un paramètre ajustable pour augmenter la relaxivité.

- **Echange des molécules d'eau**

La vitesse d'échange des molécules d'eau k_{ex} est définie comme l'inverse de leur temps de résidence dans la première sphère de coordination τ_m . D'après l'équation (3) deux cas limites peuvent être distingués. Soit le temps de résidence des molécules d'eau τ_m est très long ($\tau_m \gg T_{im}$) et l'échange de l'eau est le seul paramètre limitant la relaxivité. Soit le temps de résidence est très court ($\tau_m \ll T_{im}$) et c'est le temps de relaxation longitudinale du proton d'une molécule d'eau liée T_{im} qui limite la relaxivité. Comme nous l'avons vu précédemment il dépend de plusieurs paramètres (rotation du complexe, relaxation électronique).

- **Rotation du complexe**

Le temps de corrélation τ_r est proportionnel à la masse molaire du complexe. Son effet sur la relaxivité dépend du champ magnétique utilisé. Ainsi aux champs de l'IRM (0,5-1,5 T) la relaxivité peut être augmentée en ralentissant la vitesse de rotation des complexes. Ceci peut être effectué en augmentant le poids moléculaires des complexes [39, 47]. Cependant à des champs plus élevés si la rotation est trop ralentie la relaxivité diminue. Ainsi aux champs des nouveaux imageurs (7-9,5 T), la relaxivité la plus élevée est obtenue pour des complexes de taille intermédiaire.

- **La relaxation électronique T_{ie}**

La relaxation électronique de Gd(III) est complexe et dépendante du champ magnétique. Son rôle est faible pour les petits et les moyens complexes généralement utilisés en IRM mais augmente avec la taille des complexes dont la dynamique rotationnelle se ralentit. Cependant il n'existe pas actuellement de modèle théorique valable permettant son interprétation simple. Nous ne détaillerons donc pas plus ce point.

Cette introduction sur les agents de contraste à base de complexe de Gd(III) avait pour but de présenter brièvement quelques paramètres influençant directement leur relaxivité. En effet le développement d'agents de contraste plus performant est basé sur l'optimisation de certains de ces paramètres comme nous allons le voir. Même si l'interprétation qui est faite de nos résultats restera qualitative il était important de définir ces paramètres. De plus cette description met en évidence l'influence du champ magnétique sur la relaxivité. L'étude de la relaxivité en fonction du champ est donc indispensable pour caractériser un agent de contraste. La mesure des temps de relaxation en fonction du champ magnétique est appelé relaxométrie. L'allure du profil relaxométrique ou NMRD (Nuclear Magnetic Relaxation Dispersion) permet d'accéder à une interprétation qualitative des mécanismes de relaxation.

De nombreuses études ont ainsi cherché à optimiser les performances des complexes en jouant sur les paramètres présentés et notamment sur le temps de corrélation rotationnelle. Des complexes de

masse moléculaire élevée à rotation lente ont ainsi été synthétisés afin d'augmenter la relaxivité [39]. Toutefois la relaxivité de ces objets est faible aux champs forts (7-9 T) et reste limité aux champs de l'IRM (0,5-1,5 T). D'autres paramètres comme la vitesse d'échange de l'eau en première sphère de coordination ou la vitesse de diffusion de l'eau en sphère externe doivent être ajustés pour atteindre des relaxivités encore plus élevées. Les nanomatériaux poreux ont ainsi récemment suscité un intérêt important pour la conception de nouveaux agents de contraste plus performant. Ils représentent en effet l'opportunité d'agir non seulement sur la structure du complexe mais encore sur son environnement chimique proche, et ainsi de disposer de paramètres supplémentaires permettant d'augmenter la relaxivité.

2.1.4 Nanomatériaux dopés par des complexes de Gd(III)

L'utilisation de nanomatériaux dopés par du Gd(III) a dans un premier temps été motivée par la conception d'agent de contraste possédant une réactivité spécifique vis-à-vis de molécules biologiques cibles par fonctionnalisation de surface. Plus récemment des études ont mis en évidence que la structure de ces systèmes pouvait aussi être intéressante pour augmenter la relaxivité. A travers la présentation de différents systèmes étudiés dans la littérature nous introduirons les principaux effets observés lors du confinement du Gd(III) dans certains nanomatériaux.

Les zéolithes sont des aluminosilicates cristallisés présentant un système de micropores organisés et ajustable. Ces cavités, typiquement de l'ordre de la dizaine d'angströms, peuvent être utilisées pour y piéger les ions Gd(III). La zéolithe GdNaY a ainsi été synthétisée en remplaçant une partie des ions sodium par le Gd(III) [48]. Les ions Gd(III) sont localisés à l'intérieur des cavités qui sont connectées par des canaux de diamètre inférieur (quelques angströms) permettant le passage des molécules d'eau. Les relaxivités maximales observées pour ce type de zéolithe GdNaY sont comprises entre 10 et $38 \text{ s}^{-1} \cdot \text{mM}^{-1}$ à 60 MHz en fonction de sa composition chimique [48]. Ces valeurs remarquables peuvent être attribuées au nombre important de molécules d'eau coordonnés en sphère interne ($q=7$). En effet la zéolithe permettant de piéger l'ion Gd(III) directement, l'utilisation d'un ligand n'est dans ce cas pas nécessaire, ce qui permet de libérer des sites de coordination. Cependant les auteurs ont montré que la vitesse de diffusion des molécules d'eau de l'intérieur de la zéolithe vers l'extérieur limitait la relaxivité. Ce point est en effet crucial afin que toutes les molécules d'eau du milieu analysé puissent être relaxées par l'ion paramagnétique. Si l'agent de couplage n'est accessible que par l'eau contenue dans les cavités et que cette dernière ne peut pas s'échanger efficacement avec celles extérieures, l'efficacité de l'agent de contraste est limitée. La taille des pores est donc un paramètre crucial à prendre en compte lors de la conception de tels systèmes : le matériau qui encapsule l'ion paramagnétique doit permettre un échange rapide avec le milieu extérieur. Ceci a été mis en évidence en comparant les relaxivités de matériaux présentant soit des pores de quelques nanomètres [49] soit des pores de quelques angströms [36, 50]. Dans le premier cas la relaxivité mesurée est de $30 \text{ s}^{-1} \cdot \text{mM}^{-1}$ à 60 MHz et la diffusion de l'eau n'est pas limitante, contrairement au matériau moins poreux qui possède une relaxivité bien plus faible [50]. Des nanoparticules de silice mésoporeuse ont également été étudiées. Ces matériaux amorphes présentent également une structure poreuse organisée, mais dont la taille est cette fois de l'ordre du nanomètre. La taille des pores influence aussi la localisation des complexes de Gd(III) greffés à la silice mésoporeuse. Ainsi l'incorporation d'un même complexe de Gd(III) dans deux systèmes avec des pores de 3,3 nm (MCM-41) ou de 8,2 nm (SBA-15) conduit respectivement majoritairement à un greffage en surface, ou à un mélange entre greffage en surface et à l'intérieur des nanoparticules [51,

52]. Cette répartition différente a un effet direct sur la relaxivité puisque le complexe de Gd(III) localisé à l'intérieur du matériau est moins accessible pour les molécules d'eau, ce qui limite son efficacité. D'autres études ont mis en évidence l'importance de la taille ou de la géométrie des pores sur la vitesse d'échange de l'eau entre l'intérieur et l'extérieur des systèmes mésoporeux [36, 47]. D'une manière générale, le r_1 des matériaux où le Gd(III) est à l'intérieur de la structure est plus faible que quand il est en surface des pores ou à l'extérieur de la nanoparticule. Ceci met bien en évidence, non seulement l'importance de l'accessibilité à la sphère interne du Gd(III) pour l'eau, mais également l'influence de la diffusion des molécules d'eau dans le réseau poreux. Les liposomes sont des systèmes nanométriques ayant également été utilisés pour confiner des complexes de Gd(III) [47, 53]. Les liposomes sont des vésicules artificielles constituées par une bicouche lipidique emprisonnant un cœur aqueux. Dans ce cas les complexes de Gd(III) peuvent être localisés dans la couche lipidique ou dans le cœur aqueux générant deux contributions différentes à la relaxivité globale. Comme cela a été expliqué précédemment l'échange des molécules de l'eau avec l'extérieur du liposome est primordiale et elle est fixée dans ce cas par la perméabilité de la couche lipidique externe [53, 54]. Les liposomes permettent d'obtenir une relaxivité par particule intéressante grâce à l'addition des contributions de la grande quantité de Gd(III) incorporée. En revanche les relaxivité longitudinales r_1 par ion Gd(III) sont relativement modestes ($10\text{-}20\text{ s}^{-1}.\text{mM}^{-1}$ à 20 MHz).

L'effet de l'intégration de complexes de Gd(III) a été étudié pour beaucoup d'autres systèmes tels que les micelles [47], les MOFs (Metal Organic Frameworks) [55], les nanotubes de carbone [56] ou des nanoparticules inorganiques [57-60]. Si le confinement d'un grand nombre de complexes de Gd(III) dans une particule de taille nanométrique permet de bénéficier de l'addition de leur contribution et d'obtenir une « relaxivité par particule » importante, en revanche la relaxivité intrinsèque des ions Gd(III) n'est pas forcément améliorée. Cependant, pour divers systèmes, la théorie prévoit et l'expérience confirme que la relaxivité des complexes de Gd(III) peut être augmentée si le couple (complexe, nanoparticule) possède une combinaison judicieuse de propriétés moléculaires qu'il faut obtenir par synthèse [31, 32, 40-42, 47, 57]. L'interprétation des mécanismes de relaxation mis en jeu est très complexe dans de tels systèmes mais l'optimisation de plusieurs paramètres tels que la vitesse de rotation du complexe, la vitesse d'échange des molécules d'eau en sphère interne ou entre l'intérieur et l'extérieur des nanomatériaux, ou l'accessibilité de l'ion Gd(III) s'avère primordiale. L'utilisation de nos nanoparticules de silice comme transporteur de complexes et si possible amplificateur de leur relaxivité dans l'état libre, s'inscrit dans cette approche multidisciplinaire s'appuyant sur la physique de la relaxivité, la chimie des complexes d'ions métalliques et la chimie de synthèse des nanoparticules de silice en voie micellaire inverse. La structure interne de ces nanoparticules dopées pourrait en effet permettre de modifier le coefficient de diffusion relative D d'une molécule d'eau par rapport au complexe à l'intérieur des particules. La modification de la diffusion des molécules d'eau à proximité du complexe n'a en effet que très rarement été étudiée.

2.2 Incorporation de [Gd(ebpatcn)H₂O] dans des nanoparticules de silice par voie micellaire inverse

2.2.1 Synthèse et caractérisation des particules de silice dopés par [Gd(ebpatcn)H₂O]

Le complexe [Gd(ebpatcn)H₂O] a été incorporé dans des nanoparticules de silice par microémulsion inverse, pour deux gammes de taille, et selon les deux protocoles qui ont été décrits au chapitre 2. Ce complexe a été synthétisé à partir du ligand H₃ebpatcn qui a déjà été utilisé au chapitre 2, selon le même protocole décrit par A. Nonat [38, 61]. Ils ont également déterminé que le nombre de molécules d'eau coordonnée au Gd(III) était égal à 1 (q=1) [38]. Afin d'obtenir des échantillons suffisamment concentrés en Gd(III) les quantités introduites en complexe ont été doublées par rapport à la formulation utilisée de manière standard au chapitre 2 (Tableau 43). De plus pour permettre l'étude de ces solutions en RMN, le dernier lavage à l'eau a été remplacé par un lavage au D₂O. Les propriétés de relaxivité des échantillons finaux, redispersés dans une solution de D₂O, ont été mesurées par le Dr Fries P.H.

Tableau 43 Formulation des microémulsions selon le système ternaire et quaternaire

Système	Triton X-100/Hexanol	Igepal CO-520
Tensioactifs	1,65/1,60 mL	1,3 mL
Cyclohexane	7,5 mL	10 mL
Eau	480 µL	480 µL
[Gd(ebpatcn)(H ₂ O)]	0,16 µmol	0,16 µmol
NH ₄ OH	100 µL	100 µL
TEOS	100 µL	100 µL

Comme cela a été expliqué dans l'introduction, la concentration en Gd(III) doit être connue précisément pour pouvoir discuter des effets de relaxation mesurés. La quantité d'ions Gd(III) incorporés a ainsi été déterminée par susceptibilité magnétique en RMN, puis par ICPMS afin de confirmer les résultats. La mesure de susceptibilité consiste à mesurer la différence de déplacement chimique en RMN entre une solution de billes de silice non dopées et une solution de billes contenant le complexe [Gd(ebpatcn)(H₂O)] [62]. Le déplacement paramagnétique observé est proportionnel à la concentration en complexe. Les résultats en RMN sont comparables à ceux déterminés par ICPMS et confirment ainsi ceux obtenus au chapitre 2 par une troisième méthode de quantification (Tableau 44).

Tableau 44 Résumé des concentrations en Gd(III) incorporés dans les nanoparticules de silice déterminées par ICPMS et susceptibilité magnétique en RMN à 200 MHz.

Tensioactif(s)	[Gd] déterminée par susceptibilité magnétique (mM)	[Gd] déterminée par ICPMS (mM)
Triton X-100/Hexanol	1,86	2,17
Igepal CO-520	0,55	0,56

Les nanoparticules de silice ont également été caractérisées au MET pour s'assurer de leur taille et de leur morphologie (Figure 134).

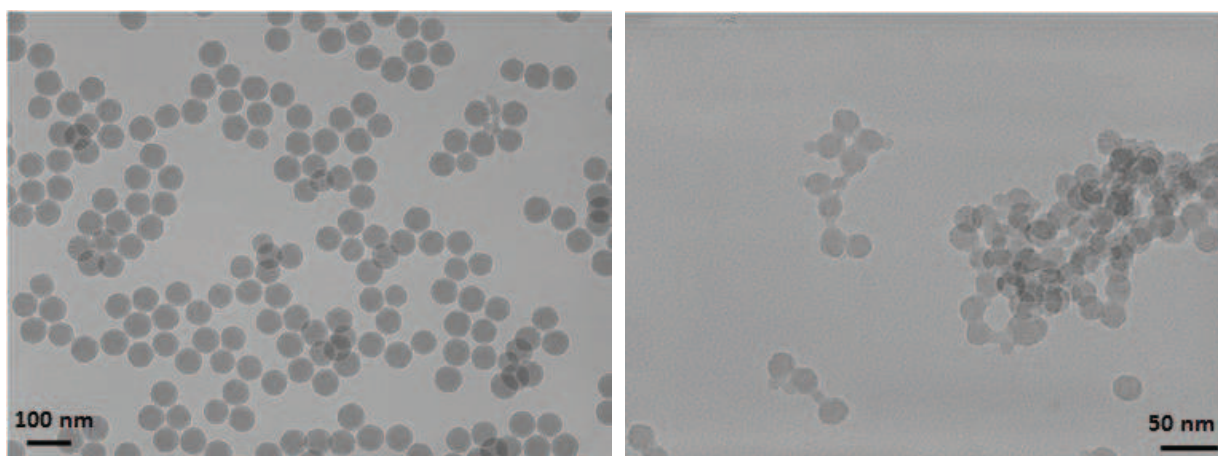


Figure 134 Images MET des nanoparticules de silice dopées par $[Gd(ebpatcn)(H_2O)]$ selon le système Triton X-100/Hexanol (à gauche) et celui à l'Igepal CO-520 (à droite)

Les nanoparticules obtenues par le système Triton X-100/Hexanol/Cyclohexane/Eau ont des tailles de 60 ± 5 nm, similaires à celles obtenues pour un même taux de dopage au chapitre 2. En revanche l'incorporation de $0,16 \mu\text{mol}$ de complexe n'avait pas été étudiée pour le système Igepal CO-520/Cyclohexane/Eau. Il s'avère qu'à cette concentration la taille des particules est fortement affectée puisqu'elles ont des diamètres de 25 ± 5 nm contre 15 ± 4 nm quand $0,8 \mu\text{mol}$ de complexe est introduit. Elles restent néanmoins sphériques et relativement monodisperses.

2.2.2 Propriétés de relaxivité de $[Gd(ebpatcn)(H_2O)]$ incorporé dans la silice

Les profils expérimentaux de la relaxivité longitudinale sont présentés à la Figure 135 pour les particules de 60 et 25 nm respectivement. Des valeurs typiques de relaxivité r_1 et r_2 sont résumées au Tableau 45 en fonction du champ B_0 .

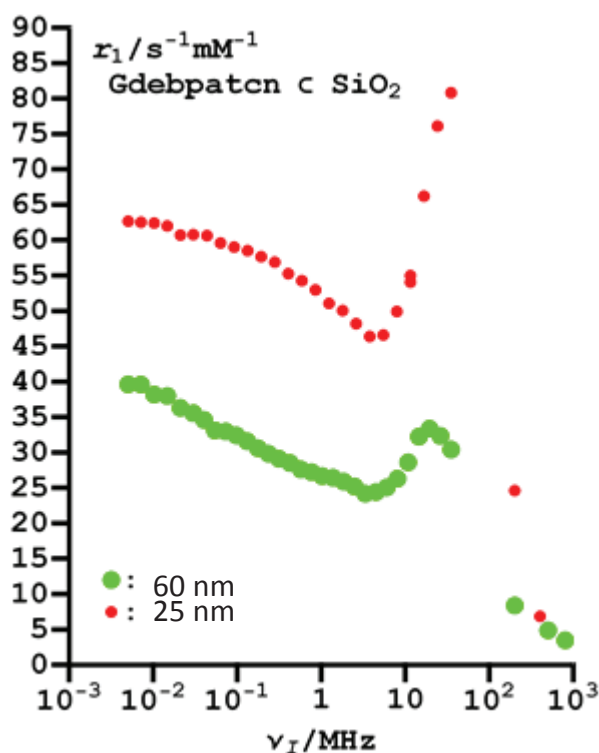


Figure 135 Profil expérimental de relaxivité longitudinale de $[Gd(ebpatcn)H_2O]$ incorporé dans des billes de silice de 25 et 60 nm

Tableau 45 Résumé des relaxivités transversales et longitudinales du complexe [Gd(ebpatcn)(H₂O)] incorporé dans des nanoparticules de 60 et de 25 nm en fonction du champ appliqué, en MHz et en T.

	$r_1(s^{-1}.mM^{-1})$			$r_2(s^{-1}.mM^{-1})$	
	35 MHz 0,7 T	200 MHz 4,7 T	400 MHz 9,4 T	200 MHz 4,7 T	400 MHz 9,4 T
Triton X-100/Hexanol	23,7	8,0	5,7	62,4	91,0
Igepal CO-520	80,8	24,6	6,9	206	171

La relaxivité longitudinale r_1 du complexe [Gd(ebpatcn)(H₂O)] libre en solution est de $4,68 s^{-1}.mM^{-1}$ à 45 MHz. Quand ce complexe est piégé dans la matrice de silice les relaxivités longitudinales maximales sont observées vers 20 MHz et sont égales à $34 s^{-1}.mM^{-1}$ pour les nanoparticules de 60 nm (TX-100/Hexanol) et à $83 s^{-1}.mM^{-1}$ dans les billes de 25 nm (Igepal CO-520). Ce qui par rapport au complexe libre, représente environ une augmentation par 7 et par 20 respectivement pour les billes de 60 nm et de 25 nm. Les relaxivités longitudinales mesurées sont remarquables, particulièrement pour les plus petites particules dont les valeurs sont parmi les plus élevées jamais rapportées dans la littérature. Les valeurs du Tableau 45 mettent bien en évidence l'influence des valeurs de champ sur la relaxivité comme cela avait été expliqué dans l'introduction. La relaxivité longitudinale diminue ainsi quand le champ augmente comme cela est montré par l'équation (1). A l'inverse la relaxivité transversale augmente avec le champ magnétique comme prédit par l'équation (2). Les relaxivités transversales de ces particules sont d'ailleurs également impressionnantes. Il semble donc que ce type de système puisse être efficace à la fois comme agent de contraste T_1 à bas champ, et comme agent de contraste T_2 à haut champ. Les vitesses de relaxation R_1 et R_2 en présence des billes de silice non dopées, d'environ $0,2 s^{-1}.mM^{-1}$, étant au moins dix à cent fois inférieures aux augmentations mesurées de ces vitesses dues aux billes dopées, ces augmentations proviennent bien d'une modification de la dynamique des molécules d'eau par rapport aux complexes quand ces derniers sont incorporés dans la silice.

Le maximum observé vers 20 MHz pour les r_1 est caractéristique de l'allongement d'un ou plusieurs temps de corrélation, ce qui a pour effet d'augmenter l'efficacité du système (équation 1). Il est en revanche délicat de déterminer précisément duquel ou desquelles il s'agit. Le fait que le complexe soit piégé dans la matrice de silice provoque probablement un allongement de son temps de corrélation rotationnel τ_r à cause de la gêne stérique imposée par la matrice ou par interactions faibles. La dynamique des molécules d'eau à l'intérieur des particules est également certainement ralentie à cause de la porosité aléatoire interne. Cet effet pourrait influencer les vitesses d'échange k_{ex} des molécules d'eau avec l'ion Gd(III) mais également le coefficient de diffusion relative D des molécules en sphère externe. Si la vitesse des molécules d'eau en translation libre à proximité du complexe est ralentie (*i.e.* augmentation du temps de corrélation), le couplage dipolaire entre la molécule d'eau et le centre paramagnétique pourrait être plus efficace car « suffisamment long » et ainsi augmenter la relaxivité de sphère externe (équations 1 et 2). Même si la dynamique de l'eau semble ralentie à l'intérieur des particules leur échange avec l'eau à l'extérieur paraît suffisamment efficace vu les relaxivités mesurées. Néanmoins on peut penser que les écarts observés entre les deux tailles de nanoparticules proviennent de cette vitesse d'échange qui peut être limitante. Les particules de 25 nm développent en effet une surface plus importante et les complexes de [Gd(ebpatcn)(H₂O)] sont en moyenne plus proches de la surface, ce qui facilite l'échange avec les molécules d'eau non incorporées. En revanche pour les particules de 60 nm, comme le complexe se

distribue uniformément en volume (chapitre 2), il est raisonnable de penser que les complexes enfouis au cœur de la particule échangent beaucoup plus difficilement (lentement) avec les molécules d'eau en dehors de la particule. La relaxivité des billes de 60 nm serait alors limitée par les complexes situés proche du cœur qui contribuent moins que ceux proches de la surface. Une autre explication pourrait venir de la forte augmentation de taille observée avec le tensioactif Igepal CO-520, qui est peut être le résultat d'une modification importante de la structure interne et de la porosité des particules de 25 nm. Il est difficile de donner une interprétation plus précise à ce stade et une caractérisation fine de la porosité de ces systèmes semblent indispensable pour pouvoir progresser dans la compréhension. La diminution de r_1 observée sur les profils de relaxométrie à bas champs avant le maximum est également un comportement original, puisque la relaxivité est généralement constante avant le maximum. Un profil similaire a été observé très récemment lors de l'incorporation d'un complexe de Gd(III) dans des nanoparticules de polysaccharide [63], dont les relaxivités r_1 et r_2 sont du même ordre de grandeur que les nôtres. Les relaxivités très élevées mesurées ont été attribuées à une augmentation du τ_r et à une contribution importante des mécanismes de sphère externe ou de seconde sphère. A notre connaissance, c'est le seul exemple, en plus du nôtre, où une modification de la vitesse de diffusion des molécules d'eau à proximité du complexe de Gd(III) a été étudiée. Il semble que la diminution de r_1 entre 0,01 et quelques MHz soit caractéristique de ce genre de système mais son interprétation reste obscure.

2.3 Conclusion

La mise en évidence d'une incorporation importante du complexe $[\text{Tb}(\text{ebpatchn})(\text{H}_2\text{O})]$ effectuée au chapitre 2 nous a encouragé à explorer l'effet de ces objets sur les propriétés de relaxivité du $[\text{Gd}(\text{ebpatchn})(\text{H}_2\text{O})]$. Il s'avère que le confinement de ce dernier dans des nanoparticules de silice synthétisées par microémulsion inverse induit une augmentation remarquable de sa relaxivité longitudinale et transversale, surtout pour les plus petites tailles de particule. Ces dernières ont des relaxivités longitudinale et transversale égales à environ $83 \text{ s}^{-1}.\text{mM}^{-1}$ à 20 MHz et à $206 \text{ s}^{-1}.\text{mM}^{-1}$ à 200 MHz. Ces valeurs, parmi les plus élevées jamais mesurées, rendent ces particules très prometteuses pour le développement de nouveaux agents de contraste en T_1 aux champs de l'IRM (0,5 à 1,5 T) mais également celui d'agent de contraste en T_2 pour les nouveaux imageurs à hauts champs (>3 T). L'interprétation des mécanismes mis en jeu reste cependant très complexe et de nombreuses études supplémentaires sont nécessaires. Le ralentissement possible de la vitesse de diffusion des molécules d'eau à l'intérieur des particules est la principale nouveauté par rapport aux autres nanomatériaux étudiées comme les zéolithes ou la silice mésoporeuse [36, 47]. La caractérisation de la structure interne des particules semble primordiale pour la compréhension de ces effets de confinement sur la dynamique moléculaire, ce qui permettrait d'envisager son optimisation de manière rationnelle. Cependant, l'augmentation de relaxivité étant moins importante pour les particules de 60 nm que pour celles de 25 nm, il est raisonnable de penser que l'échange de l'eau entre l'intérieur et l'extérieur de la particule est primordial. L'étude de la relaxivité sur plus de deux tailles de particule est particulièrement simple à faire en ajustant la nature et la quantité des tensioactifs en microémulsion. Elle pourrait fournir des informations précieuses. Par ailleurs, modifier la structure interne permettrait également de récolter des informations importantes sur la dynamique de l'eau à l'intérieur des billes. Même si l'influence de la matrice de silice n'est pas encore bien comprise, ce matériau s'avère très prometteur comme agent de contraste T_1/T_2 , puisqu'il permet non seulement de « transporter » un très grand nombre de complexes localement, mais aussi d'amplifier considérablement les performances intrinsèques de relaxivité de complexes comme le $[\text{Gd}(\text{ebpatchn})(\text{H}_2\text{O})]$.

Bibliographie du chapitre 4

1. **Lee, L.G., C.R. Connell, S.L. Woo, R.D. Cheng, B.F. McArdle, C.W. Fuller, N.D. Halloran, and R.K. Wilson**, DNA Sequencing with Dye-Labeled Terminators and DNA-Polymerase- Effect of Dyes and DNTPS on Incorporation Dye-Terminators and Probability Analysis of Termination Fragments. *Nucleic Acids Research*, **1992**. 20(10): p. 2471-2483.
2. **Jaiswal, J.K., H. Mattoussi, J.M. Mauro, and S.M. Simon**, Long-term multiple color imaging of live cells using quantum dot bioconjugates. *Nature Biotechnology*, **2003**. 21(1): p. 47-51.
3. **Blau, I.W., N. Basara, A. Serr, C. Seidl, E. Seifried, M. Fuchs, M. Bischoff, E. Roemer, and A.A. Fauser**, A second unrelated bone marrow transplant: successful quantitative monitoring of mixed chimerism using a highly discriminative PCR-STR system. *Clinical and Laboratory Haematology*, **1999**. 21(2): p. 133-138.
4. **Robert, W., R.C. Andrew, and G.S. David**, Encoded Microcarriers For High-Throughput Multiplexed Detection. *Angewandte Chemie International Edition*, **2006**. 45(37): p. 6104-6117.
5. **Braeckmans, K., S.C. De Smedt, M. Leblans, R. Pauwels, and J. Demeester**, Encoding microcarriers: Present and future technologies. *Nature Reviews Drug Discovery*, **2002**. 1(6): p. 447-456.
6. **Vignali, D.A.A.**, Multiplexed particle-based flow cytometric assays. *Journal of Immunological Methods*, **2000**. 243(1-2): p. 243-255.
7. **Kellar, K.L. and J.P. Douglass**, Multiplexed microsphere-based flow cytometric immunoassays for human cytokines. *Journal of Immunological Methods*, **2003**. 279(1-2): p. 277-285.
8. **Yan, X.M., W.W. Zhong, A.J. Tang, E.G. Schielke, W. Hang, and J.P. Nolan**, Multiplexed flow cytometric immunoassay for influenza virus detection and differentiation. *Analytical Chemistry*, **2005**. 77(23): p. 7673-7678.
9. **Bellisario, R., R.J. Colinas, and K.A. Pass**, Simultaneous measurement of thyroxine and thyrotropin from newborn dried blood-spot specimens using a multiplexed fluorescent microsphere immunoassay. *Clinical Chemistry*, **2000**. 46(9): p. 1422-1424.
10. **Bellisario, R., R. Colinas, and K. Pass**, Simultaneous quantitation of thyroxine (T4) and thyrotropin (TSH) from newborn dried blood-spot specimens with a multiplexed fluorescent immunoassay. *American Journal of Human Genetics*, **2000**. 67(4): p. 283-283.
11. **Vancaeyzeele, C., O. Ornatsky, V. Baranov, L. Shen, A. Abdelrahman, and M.A. Winnik**, Lanthanide-containing polymer nanoparticles for biological tagging applications: Nonspecific endocytosis and cell adhesion. *Journal of the American Chemical Society*, **2007**. 129: p. 13653-13660.
12. **Liang, Y., A.I. Abdelrahman, V. Baranov, and M.A. Winnik**, The synthesis and characterization of lanthanide-encoded poly(styrene-co-methacrylic acid) microspheres. *Polymer*, **2011**. 52(22): p. 5040-5052.
13. **Abdelrahman, A.I., O. Ornatsky, D. Bandura, V. Baranov, R. Kinach, S. Dai, S.C. Thickett, S. Tanner, and M.A. Winnik**, Metal-containing polystyrene beads as standards for mass cytometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, **2010**. 25(3): p. 260-268.
14. **Abdelrahman, A.I., S. Dai, S.C. Thickett, O. Ornatsky, D. Bandura, V. Baranov, and M.A. Winnik**, Lanthanide-Containing Polymer Microspheres by Multiple-Stage Dispersion Polymerization for Highly Multiplexed Bioassays. *Journal of the American Chemical Society*, **2009**. 131(42): p. 15276-15283.
15. **Herz, E., A. Burns, D. Bonner, and U. Wiesner**, Large Stokes-Shift Fluorescent Silica Nanoparticles with Enhanced Emission Over Free Dye for Single Excitation Multiplexing. *Macromolecular Rapid Communications*, **2009**. 30(22): p. 1907-1910.

16. Jiang, H.F., G.L. Wang, W.Z. Zhang, X.Y. Liu, Z.Q. Ye, D.Y. Jin, J.L. Yuan, and Z.G. Liu, Preparation and Time-Resolved Luminescence Bioassay Application of Multicolor Luminescent Lanthanide Nanoparticles. *Journal of Fluorescence*, **2010**. 20(1): p. 321-328.
17. Wang, F., X. Xue, and X. Liu, Multicolor Tuning of (Ln, P)-Doped YVO₄ Nanoparticles by Single-Wavelength Excitation. *Angewandte Chemie International Edition*, **2008**. 47(5): p. 906-909.
18. Wang, F. and X. Liu, Upconversion Multicolor Fine-Tuning: Visible to Near-Infrared Emission from Lanthanide-Doped NaYF₄ Nanoparticles. *Journal of the American Chemical Society*, **2008**. 130(17): p. 5642-5643.
19. Han, M.Y., X.H. Gao, J.Z. Su, and S. Nie, Quantum-dot-tagged microbeads for multiplexed optical coding of biomolecules. *Nature Biotechnology*, **2001**. 19(7): p. 631-635.
20. Geissler, D., L.J. Charbonniere, R.F. Ziessel, N.G. Butlin, H.-G. Loehmannsroeben, and N. Hildebrandt, Quantum Dot Biosensors for Ultrasensitive Multiplexed Diagnostics. *Angewandte Chemie-International Edition*, **2010**. 49(8): p. 1396-1401.
21. Samuel, J., G. Tallec, P. Cherns, W.L. Ling, O. Raccurt, O. Poncelet, D. Imbert, and M. Mazzanti, Lanthanide-chelate silica nanospheres as robust multicolor Vis-NIR tags. *Chemical Communications*, **2010**. 46(15): p. 2647-2649.
22. Andreiadis, E.S., D. Imbert, J. Pecaut, R. Demadrille, and M. Mazzanti, Self-assembly of highly luminescent lanthanide complexes promoted by pyridine-tetrazolate ligands. *Dalton Transactions*, **2012**. 41(4): p. 1268-1277.
23. Nonat, A., C. Gateau, P.H. Fries, and M. Mazzanti, Lanthanide Complexes of a Picolinate Ligand Derived from 1,4,7-Triazacyclononane with Potential Application in Magnetic Resonance Imaging and Time-Resolved Luminescence Imaging. *Chemistry – A European Journal*, **2006**. 12(27): p. 7133-7150.
24. Petoud, S., S.M. Cohen, J.C.G. Bunzli, and K.N. Raymond, Stable lanthanide luminescence agents highly emissive in aqueous solution: Multidentate 2-hydroxyisophthalamide complexes of Sm³⁺, Eu³⁺, Tb³⁺, Dy³⁺. *Journal of the American Chemical Society*, **2003**. 125(44): p. 13324-13325.
25. Starck, M., P. Kadjane, E. Bois, B. Darbouret, A. Incamps, R. Ziessel, and L.J. Charbonniere, Towards Libraries of Luminescent Lanthanide Complexes and Labels from Generic Synthons. *Chemistry-a European Journal*, **2011**. 17(33): p. 9164-9179.
26. Quici, S., M. Cavazzini, G. Marzanni, G. Accorsi, N. Armaroli, B. Ventura, and F. Barigelletti, Visible and near-infrared intense luminescence from water-soluble lanthanide Tb(III), Eu(III), Sm(III), Dy(III), Pr(III), Ho(III), Yb(III), Nd(III), Er(III) complexes. *Inorganic Chemistry*, **2005**. 44(3): p. 529-537.
27. Law, G.-L., T.A. Pham, J. Xu, and K.N. Raymond, A Single Sensitizer for the Excitation of Visible and NIR Lanthanide Emitters in Water with High Quantum Yields. *Angewandte Chemie-International Edition*, **2012**. 51(10): p. 2371-2374.
28. Hua, K.T., J. Xu, E.E. Quiroz, S. Lopez, A.J. Ingram, V.A. Johnson, A.R. Tisch, A. de Bettencourt-Dias, D.A. Straus, and G. Muller, Structural and Photophysical Properties of Visible- and Near-IR-Emitting Tris Lanthanide(III) Complexes Formed with the Enantiomers of N,N'-Bis(1-phenylethyl)-2,6-pyridinedicarboxamide. *Inorganic Chemistry*, **2012**. 51(1): p. 647-660.
29. Zhang, J., P.D. Badger, S.J. Geib, and S. Petoud, Sensitization of near-infrared-emitting lanthanide cations in solution by tropolonate ligands. *Angewandte Chemie-International Edition*, **2005**. 44(17): p. 2508-2512.
30. Merbach, A., E., and E. Toth, The Chemistry of Contrast Agents in Medical Magnetic Resonance Imaging **2001**, New York: Wiley.
31. Fries, P.H. and E. Belorizky, Enhancement of the water proton relaxivity by trapping Gd³⁺ complexes in nanovesicles. *Journal of Chemical Physics*, **2010**. 133(2): p. 024504.
32. Gianolio, E., R. Stefania, E. Di Gregorio, and S. Aime, MRI Paramagnetic Probes for Cellular Labeling. *European Journal of Inorganic Chemistry*, **2012**(12): p. 1934-1944.

33. **Botta, M. and L. Tei**, Relaxivity Enhancement in Macromolecular and Nanosized GdIII-Based MRI Contrast Agents. *European Journal of Inorganic Chemistry*, **2012**(12): p. 1945-1960.
34. **Klemm, P.J., W.C. Floyd, C.M. Andolina, J.M.J. Frechet, and K.N. Raymond**, Conjugation to Biocompatible Dendrimers Increases Lanthanide T₂ Relaxivity of Hydroxypyridinone Complexes for Magnetic Resonance Imaging. *European Journal of Inorganic Chemistry*, **2012**(12): p. 2108-2114.
35. **Harvey, P., I. Kuprov, and D. Parker**, Lanthanide Complexes as Paramagnetic Probes for 19F Magnetic Resonance. *European Journal of Inorganic Chemistry*, **2012**(12): p. 2015-2022.
36. **Peters, J.A. and K. Djanashvili**, Lanthanide Loaded Zeolites, Clays, and Mesoporous Silica Materials as MRI Probes. *European Journal of Inorganic Chemistry*, **2012**(12): p. 1961-1974.
37. Abragam, A. and B. Bleaney, *Résonance Paramagnétique Electronique des Ions de Transition*, 1971, Presses Universitaires de France: Paris.
38. **Nonat, A., M. Giraud, C. Gateau, P.H. Fries, L. Helm, and M. Mazzanti**, Gadolinium(III) complexes of 1,4,7-triazacyclononane based picolinate ligands: simultaneous optimization of water exchange kinetics and electronic relaxation. *Dalton Transactions*, **2009**(38): p. 8033-8046.
39. **Caravan, P.**, Strategies for increasing the sensitivity of gadolinium based MRI contrast agents. *Chemical Society Reviews*, **2006**. 35(6): p. 512-523.
40. Merbach, A.E. and E. Toth, eds. *The Chemistry of Contrast Agents in Medical Magnetic Resonance Imaging*. 2001, Wiley: New York.
41. **Aime, S., M. Botta, and E. Terreno**, Gd(III)-Based Contrast Agents for MRI. *Advances in Inorganic Chemistry*, **2005**. 57: p. 173-237.
42. **Caravan, P., J.J. Ellison, T.J. McMurry, and R.B. Lauffer**, Gadolinium(III) chelates as MRI contrast agents: Structure, dynamics, and applications. *Chemical Reviews*, **1999**. 99(9): p. 2293-2352.
43. **Helm, L.**, Relaxivity in paramagnetic systems: Theory and mechanisms. *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*, **2006**. 49(1): p. 45-64.
44. **Belorizky, E., P.H. Fries, L. Helm, J. Kowalewski, D. Kruk, R.R. Sharp, and P.-O. Westlund**, Comparison of different methods for calculating the paramagnetic relaxation enhancement of nuclear spins as a function of the magnetic field. *Journal of Chemical Physics*, **2008**. 128: p. 052315.
45. **Bonnet, C.S., P.H. Fries, S. Crouzy, and P. Delangle**, Outer-Sphere Investigation of MRI Relaxation Contrast Agents. Example of a Cyclodecapeptide Gadolinium Complex with Second-Sphere Water. *Journal of Physical Chemistry B*, **2010**. 114: p. 8770-8781.
46. **Astashkin, A.V., A.M. Raitsimring, and P. Caravan**, Pulsed ENDOR study of water coordination to Gd³⁺ complexes in orientationally disordered systems. *Journal of Physical Chemistry A*, **2004**. 108(11): p. 1990-2001.
47. **Botta, M. and L. Tei**, Relaxivity Enhancement in Macromolecular and Nanosized GdIII-Based MRI Contrast Agents. *European Journal of Inorganic Chemistry*, **2012**. 2012(12): p. 1945-1960.
48. **Platas-Iglesias, C., L. Vander Elst, W.Z. Zhou, R.N. Muller, C. Geraldes, T. Maschmeyer, and J.A. Peters**, Zeolite GdNaY nanoparticles with very high relaxivity for application as contrast agents in magnetic resonance imaging. *Chemistry-a European Journal*, **2002**. 8(22): p. 5121-5131.
49. **Norek, M., I.C. Neves, and J.A. Peters**, H-1 relaxivity of water in aqueous suspensions of Gd³⁺-loaded NaY nanozeolites and AITUD-1 mesoporous material: The influence of Si/Al ratio and pore size. *Inorganic Chemistry*, **2007**. 46(15): p. 6190-6196.
50. **Csajbok, E., I. Banyai, L. Vander Elst, R.N. Muller, W.Z. Zhou, and J.A. Peters**, Gadolinium(III)-loaded nanoparticulate zeolites as potential high-field MRI contrast agents: Relationship between structure and relaxivity. *Chemistry-a European Journal*, **2005**. 11(16): p. 4799-4807.

51. **Carniato, F., L. Tei, W. Dastru, L. Marchese, and M. Botta**, Relaxivity modulation in Gd-functionalised mesoporous silicas. *Chemical Communications*, **2009**(10): p. 1246-1248.
52. **Carniato, F., L. Tei, M. Cossi, L. Marchese, and M. Botta**, A Chemical Strategy for the Relaxivity Enhancement of Gd-III Chelates Anchored on Mesoporous Silica Nanoparticles. *Chemistry-a European Journal*, **2010**. 16(35): p. 10727-10734.
53. **Accardo, A., D. Tesauro, L. Aloj, C. Pedone, and G. Morelli**, Supramolecular aggregates containing lipophilic Gd(III) complexes as contrast agents in MRI. *Coordination Chemistry Reviews*, **2009**. 253(17-18): p. 2193-2213.
54. **Terreno, E., D.D. Castelli, C. Cabella, W. Dastru, A. Sanino, J. Stancanella, L. Tei, and S. Aime**, Paramagnetic Liposomes as Innovative Contrast Agents for Magnetic Resonance (MR) Molecular Imaging Applications. *Chemistry & Biodiversity*, **2008**. 5(10): p. 1901-1912.
55. **Della Rocca, J. and W. Lin**, Nanoscale Metal-Organic Frameworks: Magnetic Resonance Imaging Contrast Agents and Beyond. *European Journal of Inorganic Chemistry*, **2010**(24): p. 3725-3734.
56. **Sitharaman, B., K.R. Kissell, K.B. Hartman, L.A. Tran, A. Baikalov, I. Rusakova, Y. Sun, H.A. Khant, S.J. Ludtke, W. Chiu, S. Laus, E. Toth, L. Helm, A.E. Merbach, and L.J. Wilson**, Superparamagnetic gadonanotubes are high-performance MRI contrast agents. *Chemical Communications*, **2005**(31): p. 3915-3917.
57. **Ananta, J.S., B. Godin, R. Sethi, L. Moriggi, X. Liu, R.E. Serda, R. Krishnamurthy, R. Muthupillai, R.D. Bolskar, L. Helm, M. Ferrari, L.J. Wilson, and P. Decuzzi**, Geometrical confinement of gadolinium-based contrast agents in nanoporous particles enhances T1 contrast. *Nat Nano*, **2010**. 5(11): p. 815-821.
58. **Ferreira, M.F., B. Mousavi, P.M. Ferreira, C.I.O. Martins, L. Helm, J.A. Martins, and C.F.G.C. Geraldes**, Gold nanoparticles functionalised with stable, fast water exchanging Gd³⁺ chelates as high relaxivity contrast agents for MRI. *Dalton Transactions*, **2012**. 41(18): p. 5472-5475.
59. **Moriggi, L.c., C. Cannizzo, E. Dumas, C.d.R. Mayer, A. Ulianov, and L. Helm**, Gold Nanoparticles Functionalized with Gadolinium Chelates as High-Relaxivity MRI Contrast Agents. *Journal of the American Chemical Society*, **2009**. 131(31): p. 10828-10829.
60. **Alric, C., J. Taleb, G. Le Duc, C. Mandon, C. Billotey, A. Le Meur-Herland, T. Brochard, F. Vocanson, M. Janier, P. Perriat, S. Roux, and O. Tillement**, Gadolinium chelate coated gold nanoparticles as contrast agents for both X-ray computed tomography and magnetic resonance imaging. *Journal of the American Chemical Society*, **2008**. 130(18): p. 5908-5915.
61. **Nonat, A.**, Complexes de Lanthanides(III) pour le Développement de Nouvelles Sondes Magnétiques et Luminescentes. *Thèse de l'Université Joseph Fourier, Grenoble 1* **2007**.
62. **Fries, P.H.**, Model-free nuclear magnetic resonance study of intermolecular free energy landscapes in liquids with paramagnetic Ln(3+) spotlights: Theory and application to Arg-Gly-Asp. *Journal of Chemical Physics*, **2012**. 136(4).
63. **Courant, T., V.G. Roullin, C. Cadiou, M. Callewaert, M.C. Andry, C. Hoeffel, M. Port, S. Laurent, L. Vander Elst, R. Muller, M. Molinari, and F. Chuburu**, Hydrogels Incorporating GdDOTA: Towards Highly Efficient Dual T₁/T₂ MRI Contrast Agents. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2012**. 51: p. 9119-9122.

Conclusion et perspectives

Ce travail de thèse traite de l'incorporation d'organolanthanides sans liaison covalente dans des nanoparticules de silice et de polymère. Le développement et la caractérisation de ces objets a été motivé par la conception de nouveaux systèmes pour des applications de lutte anti contrefaçon et d'imagerie biomédicale. Deux matrices différentes ont été étudiées en parallèle afin de diversifier notre capacité à disperser des marqueurs luminescents dans différents environnements chimiques, et élargir le champ d'applications. L'objectif global de cette thèse est de comprendre, optimiser et caractériser ce type d'incorporation afin de permettre le développement de nanoparticules viables pour les applications visées.

Deux organolanthanides d'Eu(III) et de Tb(III) luminescents, solubles et chimiquement stables dans l'eau ont été incorporés dans des particules de silice par microémulsion inverse. Ces complexes qui possèdent des rendements quantiques élevés sont confinés dans les micelles inverses et piégés dans la matrice de silice lors de sa croissance dans les micelles. Deux systèmes de tensioactifs différents ont été utilisés afin d'étudier un éventuel effet de leur nature ou de la taille des particules sur l'incorporation. Des particules luminescentes de silice monodisperses d'environ 50 nm et 15 nm ont ainsi été obtenues, confirmant la pertinence de ce type d'incorporation. Les particules de silice dopées possèdent des propriétés de luminescence similaires à celle des complexes en solution et l'émission du Tb(III) ou de l'Eu(III) sous excitation UV est parfaitement identifiable. Cependant le rendement quantique des nanoparticules est moins élevé que celui des complexes en solution à cause de l'absorption de la matrice de silice dans la zone d'excitation UV. Ces premiers résultats sont en accord avec les travaux préliminaires de J. Samuel sur ce type de système. Un travail d'optimisation était cependant nécessaire afin d'obtenir des particules plus intenses et donc plus sensibles. La première solution est d'augmenter la longueur d'onde d'excitation des complexes dans le visible afin de s'affranchir de l'absorption de la silice. Même si cette voie suscite beaucoup d'intérêt en chimie organique, elle n'a pas été explorée dans cette thèse. La seconde consiste à augmenter le taux de dopage par particule. Il s'est en effet avéré que l'incorporation sans liaison covalente n'était pas totale. La quantification du taux de dopage en complexes dans les particules était alors nécessaire dans une optique d'application et d'optimisation du procédé. Une nouvelle méthode basée sur la quantification de l'activité gamma d'un isotope radioactif de l'Eu(III) a ainsi été développée. Cette technique très sensible s'est révélée très reproductible et a permis de déterminer précisément l'efficacité de l'incorporation des deux complexes pour les deux gammes de taille. Elle a aussi permis de quantifier la répartition des pertes et d'avoir une meilleure compréhension du procédé de récupération des particules de silice par centrifugation. Si le procédé de lavage est suffisamment efficace pour éliminer tous les complexes adsorbés et faiblement liés à la silice, ceux enfouis sont piégés durablement et ne diffusent pas à l'extérieur. Ces mesures, couplées à des caractérisations en microscopie électronique en transmission ont permis de mettre en évidence des différences de comportement en fonction des propriétés physico-chimiques des deux complexes étudiés. Bien que ces deux derniers soient parfaitement solubles dans l'eau aux concentrations utilisées, le complexe le plus hydrophobe, localisé en surface, est incorporé moins efficacement. A l'inverse le deuxième complexe, plus hydrophile, est uniformément réparti dans les particules de silice et conduit à un rendement d'incorporation élevé, limité principalement par la perte de nanoparticules pendant les étapes de centrifugation. L'influence de la nature chimique des

organolanthanides a également été observée lors de la modification des paramètres de synthèse de la silice en microémulsion inverse. Il s'est avéré que certains facteurs tels que la quantité initiale de complexe ou la taille des micelles inverses pouvaient être utilisés pour ajuster la taille, l'intensité de luminescence et la localisation des complexes au sein des particules. Le protocole pour la fonctionnalisation de la surface par des fonctions amines a par ailleurs été optimisé afin de pouvoir envisager des applications de vectorisation, tout en conservant les propriétés de luminescence des billes non fonctionnalisées. La méthode de quantification radioactive ayant permis de valider la fiabilité des mesures en ICPMS pour nos nanoparticules, nous disposons désormais d'une technique répandue et facile d'accès pour optimiser le développement de sondes luminescentes basées sur l'incorporation non covalente d'organolanthanides. Ce travail de thèse a mis en évidence l'influence de plusieurs paramètres sur l'efficacité de l'incorporation qui seront utiles au développement de futures nanoparticules luminescentes, et il a également fourni le moyen de les évaluer précisément.

Bien que des améliorations soient encore possibles, l'organolanthanide le plus hydrophile permet d'obtenir des nanoparticules de silice luminescentes dans deux gammes de taille, avec un rendement d'incorporation élevé sans avoir recours au greffage covalent. Le ligand utilisé permet d'exciter efficacement l'Eu(III) et le Tb(III) sous une longueur d'onde d'excitation unique et la quantité incorporée peut être ajustée. Ce système nanométrique luminescent, stable (vis-à-vis du relargage et du photoblanchiment) et pouvant être fonctionnalisé, semble prometteur pour des applications de multiplexing en imagerie biomédicale. La caractérisation poussée de ce système a aussi permis d'étudier le confinement d'un complexe de Gd(III) dans ces nanoparticules de silice. En effet la quantité de Gd(III) incorporée déterminée par susceptibilité magnétique en RMN est conforme à celle obtenue par ICPMS ou traçage radioactif. Cette étude a ainsi permis de mettre en évidence une nette augmentation des vitesses de relaxation longitudinale et transversale du complexe de Gd(III) quand il est incorporé dans la silice, respectivement à bas champ et à haut champ. Ces résultats sont très prometteurs et offrent de nouvelles perspectives pour le développement d'agents de contraste positifs aux champs de l'IRM actuels et négatifs aux champs plus élevés des nouveaux imageurs. La théorie de la relaxivité est complexe et dépend de nombreux paramètres dont certains peuvent être influencés par la structure interne de la particule de silice. Ce travail préliminaire a permis de mettre en évidence l'importance de la localisation des complexes sur la vitesse d'échange de l'eau entre l'intérieur et l'extérieur des nanoparticules. Il semble de plus que la vitesse de diffusion des molécules d'eau à l'intérieur des particules soit ralentie, contribuant à l'augmentation de relaxivité mesurée. La caractérisation et l'optimisation de ces effets en modifiant la taille et la porosité de la silice, ou la localisation du complexe, pourrait permettre le développement d'agents de contraste encore plus performants.

Dans le même temps des latex luminescents ont été obtenus par polymérisation d'une solution d'organolanthanides dissout dans un monomère en miniémulsion directe. Différents organolanthanides de Tb(III) et d'Eu(III) organosolubles ont ainsi été étudiés et incorporés avec succès dans latex de PS, PMMA et PAbu par simple dissolution dans le monomère correspondant. L'incorporation d'un complexe possédant une structure ionique a cependant imposé certaines précautions. L'influence de la structure du complexe sur l'incorporation a ainsi été étudiée pour la première fois. L'incorporation de ce complexe, stabilisé par trois ions triéthylammonium, impose d'utiliser un tensioactif cationique, le CTAB. Les charges positives apportées par ce tensioactif permettent de stabiliser le complexe à l'intérieur des gouttelettes de monomère et de garantir son incorporation. Des quantités croissantes de complexes ont ainsi pu être incorporées dans des

particules de PMMA avec une efficacité constante d'environ 85 %. La présence du complexe ne perturbe par le procédé de polymérisation jusqu'à un certain taux de dopage. Les gouttelettes grossissent progressivement avec l'ajout de complexe ce qui entraîne une augmentation de la taille des particules avec le taux de dopage. Cependant le comportement des miniémulsions à ces taux de dopage est similaire. Dans tous les cas, malgré un léger phénomène de coalescence la taille des gouttelettes initiales de monomère et celle des particules après polymérisation sont assez proches, comme attendu pour ce type de procédé. Au-delà d'une certaine concentration en revanche, la miniémulsion est déstabilisée et le latex obtenu est polydisperse et très visqueux. L'incorporation sans greffage covalent du complexe ionique s'est par ailleurs avérée stable puisqu'aucun relargage n'a été observé après plusieurs mois dans l'eau ultra-pure. L'étude de ce complexe en particulier a été motivée par le fait que son ligand permet d'exciter efficacement jusqu'à dix lanthanides sous une même longueur d'onde d'excitation. Le fait de pouvoir le disperser dans un latex présentait donc un enjeu majeur pour le développement de codes d'authentification basés sur des spectres lumineux complexes pour la lutte anti contrefaçon. Ainsi deux latex de PMMA dopés par trois et quatre lanthanides ont été synthétisés. Sous excitation UV les latex émettent un spectre issu de la superposition de l'émission des différentes terres rares et où chaque contribution peut être clairement identifiée. Ces résultats permettent d'envisager le développement d'un très grand nombre de codes optiques basés sur la combinaison des différents spectres d'émission des dix terres rares et sur leur niveau d'intensité. Ce genre de système « multi luminescent » et pouvant être « lu » sous une excitation unique est particulièrement adapté au marquage pour l'anti contrefaçon, mais aussi au multiplexing en biologie. La toxicité du CTAB est actuellement rédhibitoire pour des applications dans le domaine biomédical mais il serait intéressant d'étudier son remplacement par un stabilisant alternatif biocompatible. De plus, les informations récoltées lors de l'incorporation de ce complexe ionique, permettent d'étendre le choix d'organolanthanides pouvant être encapsulés dans des nanoparticules de latex, jusque-là limité aux structures non-ioniques.

ANNEXE 1 : Méthodes et instruments de caractérisation

1. Techniques de caractérisation

1.1. Taille et morphologie des particules

Un Zetasizer Nano ZS de chez Malvern a été utilisé pour mesurer la taille des gouttelettes de monomère et des particules de polymère. Pour mesurer l'évolution de la taille des gouttelettes au cours de la polymérisation en miniémulsion, des prélèvements sont effectués à intervalles réguliers, dilués à l'eau et analysés.

Les particules de silice et de latex ont également été caractérisées par Microscopie Electronique en Transmission (MET, JEOL 2000FX à 200 kV). Une goutte de l'échantillon dilué est déposée et laissée à évaporer à l'air sur un film de carbone recouvrant une grille en cuivre. Les images MET en haute résolution et en champ sombre ont été effectuées par la société SERMA sur un microscope TECNAI G2 S-TWIN à 200 kV.

1.2. Propriétés de luminescence

Les spectres d'émission et d'excitation ont été enregistrés sur un spectrofluorimètre FS920 (Edinburgh Instruments, UK). Les échantillons sont analysés dans des cuves en quartz transparentes aux UV. La source d'excitation est une lampe au xénon de 450 W et le détecteur pour la région UV-visible est un photomultiplicateur R928.

Les mesures de temps de vie, de rendement quantique et les spectres d'émission dans l'infrarouge ont été effectués sur un spectrofluorimètre Fluorolog FL 3-22 de chez Horiba-Jobin Yvon-Spex avec des tubes en quartz. Il est équipé d'un spectromètre iHR320 couplé à un photomultiplicateur R928P de chez Hamamatsu pour les mesures dans le visible et d'un photomultiplicateur Hamamatsu R5509 pour celles dans l'infrarouge. La source d'excitation est une lampe au Xénon de 450 W. Les temps de vie ont été mesurés en temps résolu. Ils sont déterminés à partir de la décroissance de l'intensité maximale d'émission après un pulse d'excitation. Dans toute cette thèse cette décroissance suit une loi mono exponentielle caractérisée par le temps de demi-vie. Les valeurs présentées sont la moyenne de trois mesures indépendantes.

Les rendements quantiques ont été mesurés à température ambiante avec une sphère d'intégration couplée au Fluorolog FL 3-22 en utilisant une méthode précédemment décrite [1]. Le rendement quantique est ainsi mesuré à partir de l'équation suivante :

$$\Phi = \frac{E_c}{L_a - L_c} = \frac{E_c}{L_a \times \alpha}$$

$$\alpha = \frac{L_a - L_c}{L_a}$$

E_c : spectre d'émission de l'échantillon

L_a : spectre d'émission de l'excitation de la référence (solvant ou solution colloïdale non marquée dans le tube quartz de 4 mm de diamètre).

L_c : spectre d'émission de l'excitation de l'échantillon

Le rendement quantique total Φ_{Eu}^L est calculé à partir de l'équation ci-dessous :

$$\Phi_{Eu}^L = \eta_{ISC} \times \eta_{ET} \times \Phi_{Eu}^{Eu} = \eta_{sens} \times \Phi_{Eu}^{Eu}$$

η_{ISC} rend compte de la transition entre les états excités $^1\pi\pi^* \rightarrow ^3\pi\pi^*$ du ligand

η_{ET} rend compte du transfert d'énergie entre les états excités du ligand et de la terre rare ($^3\pi\pi^* \rightarrow Ln$).

1.3. Méthodes de quantification

L'activité gamma des échantillons analysés a été déterminée avec un compteur gamma 1480 Wizard. Chaque analyse est effectuée dans un tube de 20 mL. Pour chaque série d'échantillons un blanc d'eau ultra pure est compté afin de fixer le zéro.

La concentration en ions lanthanides a été mesurée par un ICP-MS (Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometer HP 4500 Series). Pour chaque espèce à analyser, une courbe d'étalonnage de l'ion correspondant doit être tracée à partir des solutions étalons de chez VWR. A partir de cette courbe et en diluant l'échantillon judicieusement il est alors possible de déterminer sa concentration précisément. Avant chaque analyse les solutions sont acidifiées par de l'acide nitrique à 65 %.

1.4. Méthodes de quantification

Les particules de silice sont récupérées par une centrifugeuse ThermoScientific Heraeus Multifuge X3R avec un rotor F135-14*50C. Des tubes coniques de 50 mL en polypropylène de chez VWR sont utilisés systématiquement.

2. Calculs pour le suivi de la polymérisation

2.1. Conversion du monomère

L'évolution de la conversion du monomère a été effectuée sur des échantillons prélevés à intervalles réguliers (environ 2 g) par gravimétrie. L'échantillon prélevé est pesé et séché à l'étuve pendant une nuit à 100°C pour éliminer l'eau et le monomère résiduel. Le taux de solide théorique en cas d'une conversion atteignant 100 % est donné par l'équation :

$$TS \text{ théorique} = \frac{m_{\text{monomère}} + m_{\text{hydrophobe}}}{m_{\text{totale}}}$$

La masse totale comprend l'eau, le tensioactif, l'amorceur, l'agent hydrophobe et le monomère. Le taux de solide de l'échantillon prélevé au cours de la polymérisation est donné par l'équation :

$$TS(\%) = \frac{m_{\text{sec}}}{m_{\text{échantillon}}} \times 100$$

Où m_{sec} et $m_{\text{échantillon}}$ représentent respectivement la masse de l'extrait sec après séchage et la masse du prélèvement.

Le taux de solide avant le début de la polymérisation est égal à :

$$TS \text{ initial} = \frac{m_{\text{tensioactif}} + m_{\text{amorceur}}}{m_{\text{totale}}}$$

La conversion est finalement obtenue par l'équation suivante :

$$Conversion \% = \frac{TS - TS_{initial}}{TS_{théorique}} \times 100$$

2.2. Calcul du nombre de gouttelettes et de particules

La taille des gouttelettes de monomère et des particules de polymère ont été mesurées par DDL. Le nombre de gouttelettes de monomère peut alors être estimé suivant l'équation suivante :

$$Ng = \frac{m_m \times 6}{d_m \times \pi \times \varnothing_m}$$

m_m est la masse de monomère introduite (g)

d_m est la densité du monomère (g/cm³)

\varnothing_m est le diamètre des gouttelettes (cm)

Après le début de la polymérisation le nombre de particules est donné par :

$$Np = \frac{\left(\frac{m_m \times C}{d_m} + \frac{m_m(1 - C)}{d_p}\right) \times 6}{\pi \times \varnothing_p^3}$$

m_m est la masse de monomère introduite (g)

d_m est la densité du monomère (g/cm³)

d_p est la densité du polymère (g/cm³)

\varnothing_p est le diamètre des particules (cm)

C est la conversion

1. **deMello, J.C., H.F. Wittmann, and R.H. Friend**, An improved experimental determination of external photoluminescence quantum efficiency. *Advanced Materials*, **1997**. 9(3): p. 230-&.

ANNEXE 2 : Caractérisation de l'incorporation de $\text{Ln}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$ avec $\text{Ln} = \text{Eu}, \text{Tb}, \text{Dy}, \text{Sm}$ par polymérisation en miniémulsion

Les mélanges de complexe $\text{Ln}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$ avec $\text{Ln}=\text{Eu}/\text{Tb}/\text{Dy}$ ou $\text{Ln}=\text{Eu}/\text{Tb}/\text{Dy}/\text{Sm}$ ont été dissous dans le MMA et ont été polymérisés en miniémulsion selon le protocole décrit au chapitre 3. La formulation est rappelée au Tableau 46.

Tableau 46 Formulation de la polymérisation en miniémulsion pour l'incorporation de mélanges de $\text{Ln}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$ ($\text{Ln} = \text{Eu}, \text{Tb}, \text{Dy}, \text{Sm}$) dans des particules de PMMA.

Composés	Masse (g)
CTAB	0,075
Eau	50
MMA	10
ODA	0,4
$\text{Ln}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$	0,050
AIBA	0,1

Le Tableau 47 résume les principales caractéristiques des latex obtenus. Les Figures 1 et 2 représentent l'évolution de la conversion et de la taille des particules en fonction du temps pour les deux mélanges. Le même comportement est observé quand une solution contenant uniquement $\text{Eu}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$ est incorporée. Ceci confirme que la terre rare n'a pas d'influence sur la polymérisation en miniémulsion.

Tableau 47 Principales caractéristiques des latex de PMMA synthétisés par polymérisation en miniémulsion et contenant des mélanges de complexes de lanthanide $\text{Ln}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$

Ln	Teneur en complexe ^{a)} (% poids)	Diamètre des gouttelettes initiales ^{b)} (nm)	Diamètre des particules finales ^{b)} (nm)	Indice de Polydispersité des particules finales ^{b)}	Np/ Ng	Conversion (%)	Taux de solide (%)
Eu/Tb/Dy	0,5	96	113	0,02	0,49	98,1	16,8
Eu/Tb/Dy/Sm	0,5	120	121	0,01	0,80	95,7	16,3
Eu	0,5	102	122	0,01	0,47	99,9	17,5

^{a)} Calculé par rapport au monomère. ^{b)} Mesuré par DDL

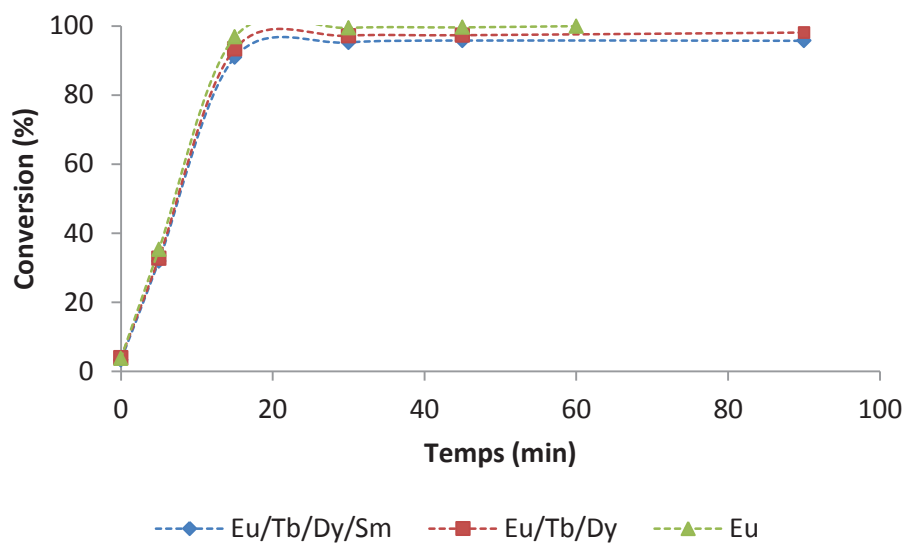


Figure 136 Evolution de la conversion en fonction du temps au cours de la polymérisation en miniémulsion de solutions de MMA contenant des mélanges de complexes de lanthanide $\text{Ln}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$ et stabilisée par le CTAB.

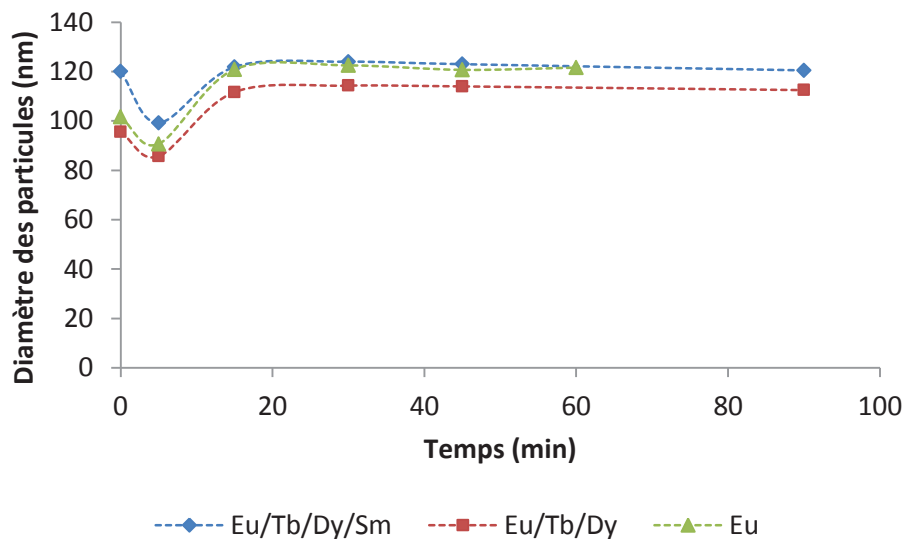


Figure 137 Evolution du diamètre des particules en fonction du temps au cours de la polymérisation en miniémulsion de solutions de MMA contenant des mélanges de complexes de lanthanide $\text{Ln}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$ et stabilisées par le CTAB.

ANNEXE 3 : Détail des propriétés de luminescence de $\text{Ln}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$ et $\text{Ln}(\text{pytz})_3(\text{NHEt}_3)_3$

1. Spectres d'excitation et d'émission de $\text{Ln}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$ dans le méthanol à $2,3 \cdot 10^{-3} \text{ M}$

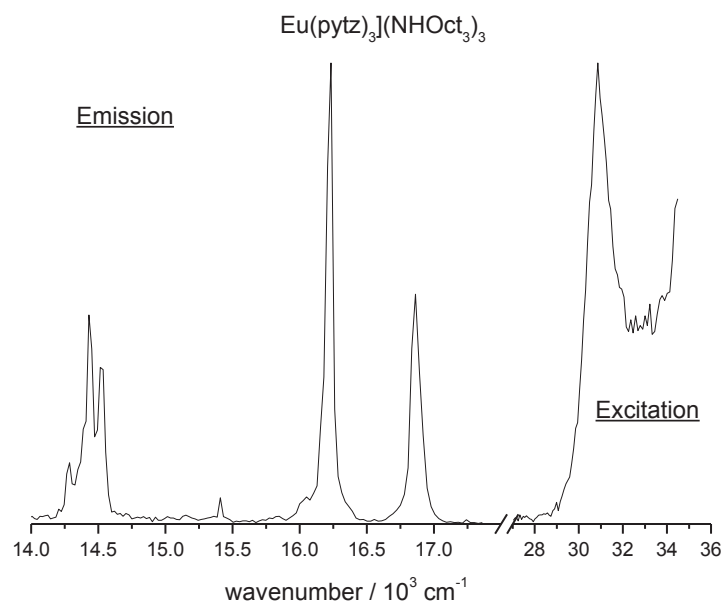


Figure 138 Spectres d'excitation et d'émission normalisés de $\text{Eu}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$

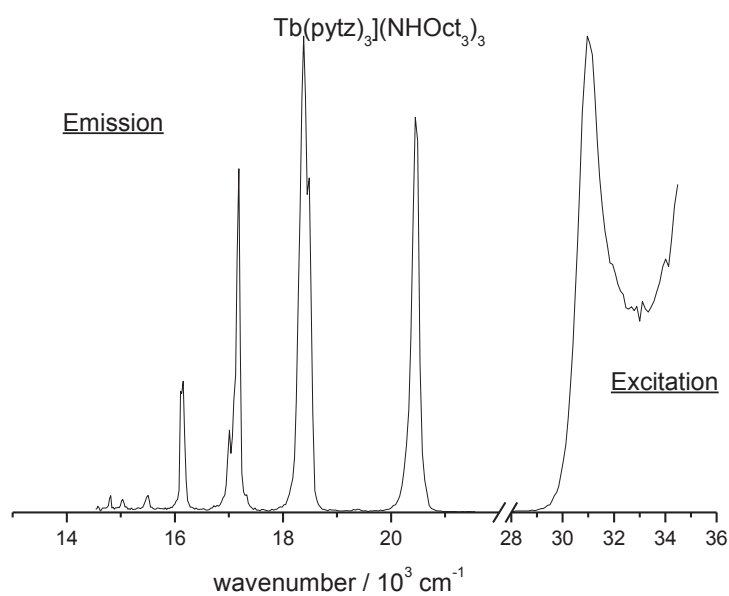


Figure 139 Spectres d'excitation et d'émission normalisés de $\text{Tb}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$

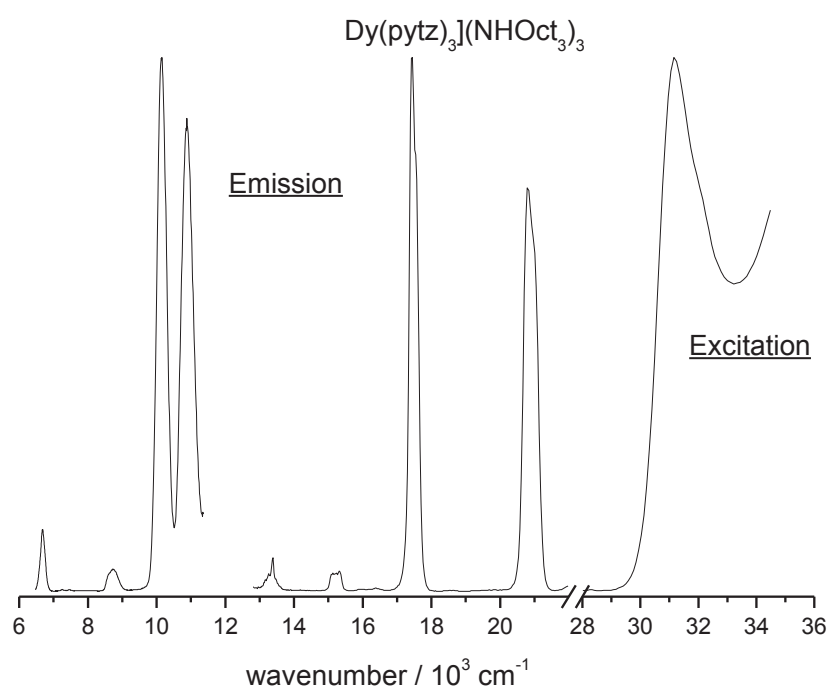


Figure 140 Spectres d'excitation et d'émission de $\text{Dy}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$

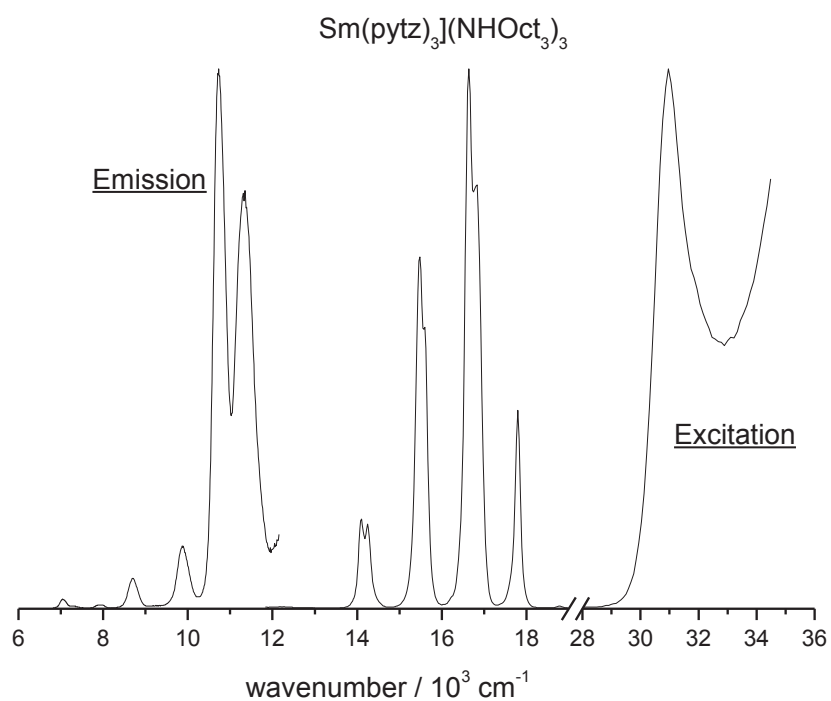


Figure 141 Spectres d'excitation et d'émission normalisés de $\text{Sm}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$

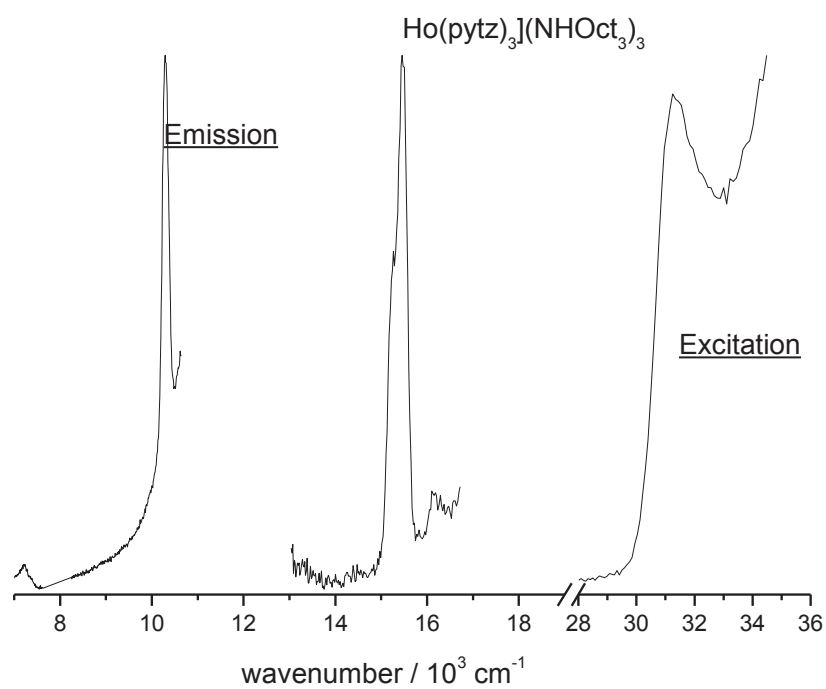


Figure 142 Spectres d'excitation et d'émission normalisés de $\text{Ho}(\text{pytz})_3](\text{NHOct}_3)_3$

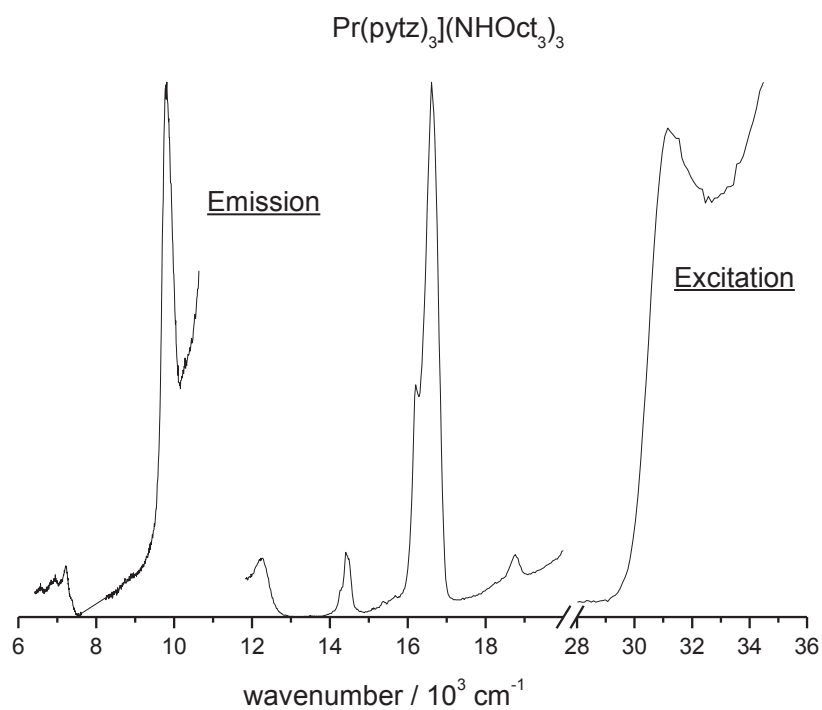


Figure 143 Spectres d'excitation et d'émission normalisés de $\text{Pr}(\text{pytz})_3](\text{NHOct}_3)_3$

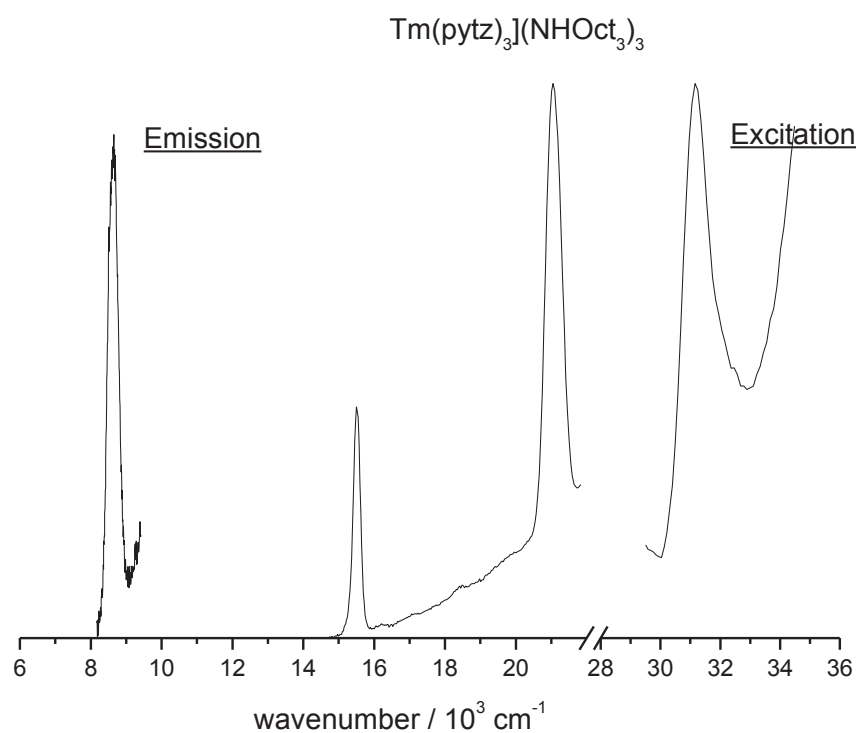


Figure 144 Spectres d'excitation et d'émission normalisés de $\text{Tm}(\text{pytz})_3[\text{NHOct}_3]_3$

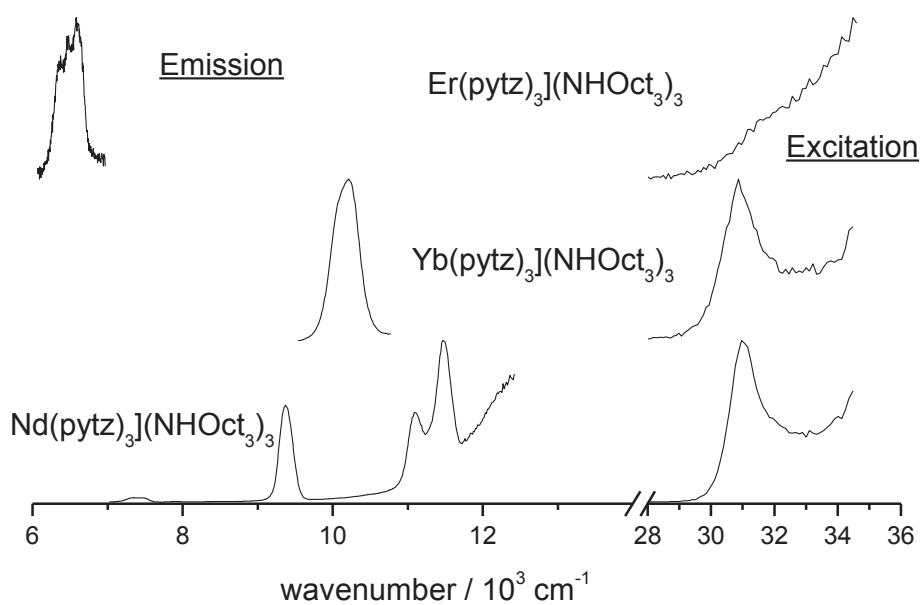


Figure 145 Spectres d'excitation et d'émission normalisés de $\text{Ln}(\text{pytz})_3[\text{NHOct}_3]_3$ avec $\text{Ln} = \text{Er}, \text{Yb}, \text{Nd}$.

2. Spectres d'excitation et d'émission de $\text{Ln}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$ à l'état solide (évaporation du méthanol)

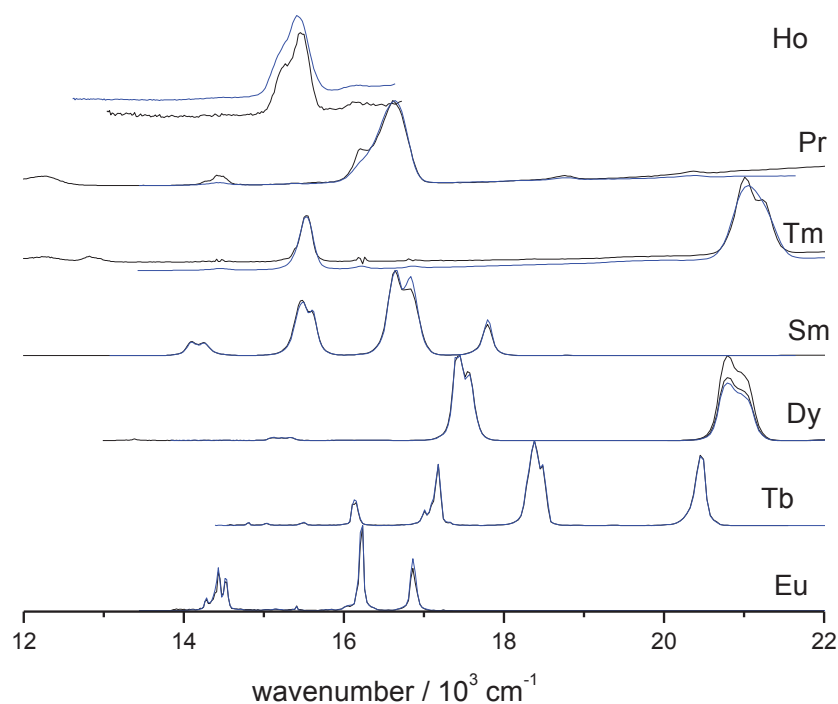


Figure 146 Spectres d'émission des complexes de $\text{Ln}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$ dans le méthanol (noir) et à l'état solide (bleu) avec une excitation à 322 nm

3. Propriétés de luminescence du complexe hydrosoluble $\text{Ln}(\text{pytz})_3(\text{NHEt}_3)_3$

Le complexe $\text{Ln}(\text{pytz})_3(\text{NHEt}_3)_3$ est soluble dans l'eau et présente les mêmes propriétés d'émission que $\text{Ln}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$ dans le méthanol ou à l'état solide comme le montre la Figure 147.

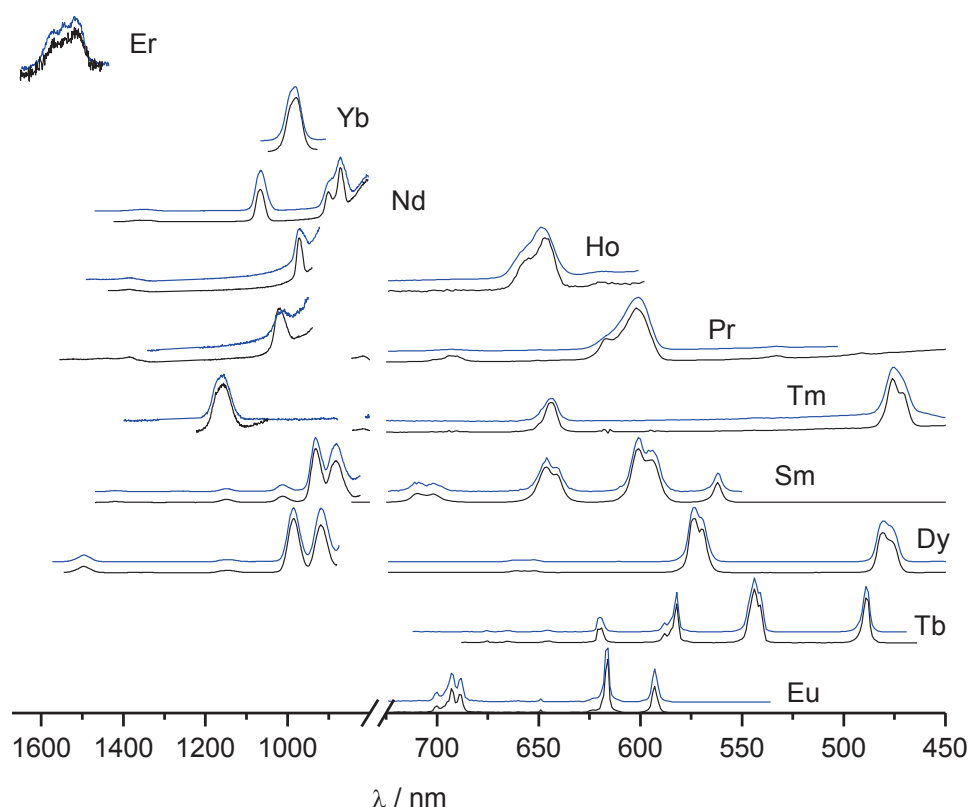


Figure 147 Spectres d'émission de $\text{Ln}(\text{pytz})_3(\text{NHET}_3)_3$ dans l'eau (bleu) et de $\text{Ln}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$ dans le méthanol (noir) à $2,3 \cdot 10^{-3}$ M avec une excitation à 322 nm.

Le temps de vie et les rendements quantiques des différents complexes $\text{Ln}(\text{pytz})_3(\text{NHET}_3)_3$ ont été mesurés et sont résumés au Tableau 48. Ils sont similaires à ceux qui ont été déterminés pour $\text{Ln}(\text{pytz})_3(\text{NHOct}_3)_3$ dans le méthanol ou à l'état solide.

Tableau 48 Temps de vie et rendements quantiques de $\text{Ln}(\text{pytz})_3(\text{NHET}_3)_3$ dans l'eau. Excitation à 322 nm.

Ln	Temps de vie (ms)	Rendement quantique (%) entre 400-800 nm	Rendement quantique (%) entre 800-1700 nm
Eu	2,37	17,5	-
Tb	2,23	62,3	-
Dy	0,05	7,1	$11 \cdot 10^{-2}$
Sm	0,09	1,8	$15 \cdot 10^{-2}$
Ho		$8 \cdot 10^{-3}$	$7 \cdot 10^{-4}$
Pr		$6 \cdot 10^{-3}$	$4 \cdot 10^{-4}$
Tm		$8 \cdot 10^{-2}$	$2 \cdot 10^{-3}$
Nd		-	$11 \cdot 10^{-2}$
Yb		-	$32 \cdot 10^{-2}$
Er		-	$2 \cdot 10^{-4}$